

UNIVERSITE DE PARIS-SUD

---

UNITE D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE DES SCIENCES  
PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

Année 1973-1974

# THÈSE

Série U. n° 14

Présentée

A L'UNITE D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE  
DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES  
DE L'UNIVERSITE PARIS-SUD

Pour l'obtention du titre de  
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE  
(Mention Pharmacie)

par

Mlle Narumon SUTCHARITDHAM

ETUDE CRITIQUE DE L'INTENSITE DES REPONSES  
DES ORGANES ISOLES A FIBRES LISSES  
SELON LES MODALITES D'ADMINISTRATION GLOBALE  
OU CUMULEE DE L'AGENT PHARMACOLOGIQUE.

---

*Soutenue le 5 juillet 1974 devant la commission d'examen :*

Jury :

M. Y. COHEN

Président

M. G. VALETTE

Examineurs

M. R. BOULU



UNITE D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE DES SCIENCES  
PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

Année 1973-1974

THÈSE

Série U. n° 14

Présentée

A L'UNITE D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE  
DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES  
DE L'UNIVERSITE PARIS-SUD

Pour l'obtention du titre de  
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE  
(Mention Pharmacie)

par

Mlle Narumon SUTCHARITDHAM

ETUDE CRITIQUE DE L'INTENSITE DES REPONSES  
DES ORGANES ISOLES A FIBRES LISSES  
SELON LES MODALITES D'ADMINISTRATION GLOBALE  
OU CUMULEE DE L'AGENT PHARMACOLOGIQUE.

---

*Soutenue le 5 juillet 1974 devant la commission d'examen :*

Jury :

M. Y. COHEN

Président

M. G. VALETTE

Examineurs

M. R. BOULU

1875

# THÈSE

1875

ÉTUDE CRITIQUE DE LA  
DES ORGANES SÉCRÉTOIRES  
DE L'APPAREIL DIGESTIF

PAR  
M. J. J. J. J.

M. J. J. J. J.



ÉTUDE CRITIQUE DE LA  
DES ORGANES SÉCRÉTOIRES  
DE L'APPAREIL DIGESTIF  
SELON LES MÉTHODES D'ANATOMIE GÉNÉRALE  
OU COMPARÉE DE L'ANATOMIE PHRASEOLOGIQUE

Par M. J. J. J. J.

Président

M. Y. COHEN

Examinateur

M. G. VAILLANT

M. R. HOUT

A la mémoire de mon Père ,

A ma Mère

en témoignage de tendre reconnaissance .

A ma Soeur ,

A mes Frères ,

en signe de sincère affection .



A Monsieur le Doyen Guillaume VALETTE

qui m'a confié ce travail,  
en témoignage de fidèle attachement.

A Monsieur le Doyen Yves COHEN

qui m'a fait l'honneur de m'accueillir à la Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Paris-Sud,  
en respectueux hommage.

A Monsieur le Professeur Roger BOULU

qui a bien voulu examiner ce travail,  
en respectueux hommage.



Au Révérend Père R. BILLOT,

Au PRAKRUSAMOU CHAN

Au Professeur P. XUMSAENG

de la Faculté de Pharmacie de Bangkok

en gage de respectueuse gratitude.

A Monsieur le Directeur du Centre International  
des Etudiants et stagiaires,

A Madame le Docteur BONIS CHARANCLE

qui m'ont permis, à Paris, d'accom-  
plir les études les plus profitables  
et de compléter mes connaissances  
en Pharmacologie.



## INTRODUCTION

---

La réponse fournie par un organe ou un tissu contractile mis en présence d'une substance pharmacologiquement active est fonction, au moins entre certaines limites, de la dose utilisée.

Depuis les travaux de A. J. CLARK (1926-1937) de nombreux auteurs, et notamment ARIENS et coll. (1954-1963), se sont attachés à l'étude des courbes action-dose obtenues sur les organes isolés, soumis à l'effet des agents pharmacologiques les plus divers.

Or, si dans la plupart des cas la réponse fournie par un organe isolé à l'action d'une dose déterminée d'une substance contracturante ne varie pas d'intensité lorsque l'on répète plusieurs fois l'addition de substance avec renouvellement intercalé du liquide de survie, on constate, au contraire, avec certains agents pharmacologiques, une diminution progressive de l'intensité des réponses, qui traduit un état de désensibilisation de l'organe à l'égard de la substance considérée.

Ce phénomène de tolérance aiguë, qui apparaît en l'espace de quelques dizaines de minutes, se manifeste aussi bien in vivo, sur la pression artérielle, le cœur ou le tonus vasculaire d'un organe, qu'in vitro sur la contractibilité d'organes ou de préparations isolées, comme l'utérus, les vaisseaux du rein, de la rate, de l'intestin, la trachée, les bronches, etc...

L'apparition de ce phénomène de tolérance aiguë, appelé tachyphylaxie, est conditionné par trois facteurs principaux, à savoir l'importance des doses, la durée de l'intervalle entre les doses et la durée de contact avec l'organe effecteur.

Il faut remarquer, en outre, que cette tolérance aiguë présente un caractère fugace ; c'est ainsi que la sensibilité aux effets hypertenseurs de l'éphédrine qui s'abaisse notablement chez le Rat en 30 ou 40 minutes à la suite de l'administration de quatre ou cinq doses de 1 mg/kg de ce composé, cette sensibilité est revenue à sa valeur initiale lorsque l'animal est laissé au repos et soustrait à tout traitement pendant 2 à 3 h.

Or, la tolérance aiguë peut apparaître dans des conditions un peu différentes lorsque l'on compare, sur un organe isolé les réponses obtenues avec une dose de substance active introduite, soit en une seule fois, soit de manière cumulative. On constate, en effet, que pour un certain nombre d'agonistes, l'amplitude de la réponse fournie par l'organe mis en contact d'emblée avec la dose totale de substance est supérieure à la réponse obtenue par l'addition de cette même dose réalisée en plusieurs fois (3 à 5).

La différence observée entre les résultats obtenus en opérant selon l'une ou l'autre des deux techniques précitées, peut résulter d'un comportement particulier de l'organe dont l'état de contracture, au lieu de se maintenir sous la forme d'un "plateau", s'atténue en l'espace de quelques minutes pour se stabiliser à un niveau inférieur. C'est là le phénomène connu sous le nom de "fading". Mais l'apparition de ce fading n'est pas une cause indispensable pour que l'effet d'une dose "cumulée" de substance se manifeste par une réponse d'amplitude inférieure à l'effet de la même dose introduite en une seule fois.

La construction de courbes dose-réponse, à laquelle les pharmacologistes ont si souvent recours, peut être rendue plus aisée et plus rapide dans la mesure où la technique dite cumulative des essais sur les organes isolés est à l'abri de toute critique et cette technique a été largement exploitée en fait par ARIENS et son école, dans l'ensemble des investigations qu'ils ont consacrées au domaine de la pharmacologie moléculaire.

Il était permis de se demander cependant si cette technique pouvait être judicieusement employée, même lorsque le phénomène du "fading" ne se manifeste pas dans les conditions expérimentales utilisées, et cela, quel que soit l'organe isolé et l'agoniste utilisée et c'est à l'étude de ce problème que nous avons consacré notre travail.

Nous nous sommes donc proposé d'étudier les effets d'un certain nombre d'agonistes : noradrénaline et autres sympathomimétiques directs ou indirects, acétylcholine et autres esters de la choline, sérotonine et histamine sur différents organes isolés en comparant les réponses obtenues respectivement par la technique classique et la technique "cumulative". D'autre part, nous avons interprété les résultats observés en nous efforçant d'établir la cause des différences observées entre les réponses par ces deux techniques.

Nous avons eu recours pour cela à l'intervention d'agents pharmacologiques capables de moduler l'effet des agonistes en entravant la dégradation métabolique ou la fixation intracellulaire de ceux-ci.

L'intérêt de ce travail nous paraît indiscutable à un double titre :

- a) du point de vue technique, nous avons cherché à préciser dans chaque cas particulier, à quels types d'organes isolés la technique cumulative est applicable sans qu'il y ait lieu de craindre des différences importantes avec la technique classique d'utilisation de ces organes.
- b) du point de vue théorique, nous montrons de quelle manière les différents organes se comportent in vitro, quant au pouvoir d'inactivation qu'ils sont capables de révéler à l'égard des agonistes le plus souvent employés en pharmacologie.



## PREMIERE PARTIE

### TRAVAUX ANTERIEURS

L'une des premières observations du phénomène de tolérance sur un organe isolé est due à W. STRAUB (1907). Ce travail, resté classique, montrait que le coeur isolé et perfusé d'APLYSIE (Mollusque nudibranche), soumis à l'action de la muscarine, accuse tout d'abord un ralentissement et une diminution d'amplitude de ses battements, mais que, bientôt et malgré la présence maintenue du toxique dans le liquide de RINGER perfusant, les contractions cardiaques reprennent peu à peu leur fréquence et leur amplitude initiales. Si l'on fait alors cesser l'action de la muscarine en substituant à la solution perfusante chargée de cet alcaloïde du liquide de RINGER, on voit se manifester à nouveau l'effet observé au début, c'est-à-dire la dépression de la fréquence et de la contractilité de l'organe. Sur cette observation a été fondée la notion de "poisons potentiels" parmi lesquels se range la muscarine. Ces poisons, selon STRAUB, ne produisent leur effet biologique caractéristique que dans la mesure où existe une différence de concentration (à l'image d'une différence de "potentiel" électrique) entre le milieu inférieur de la cellule effectrice et le milieu extérieur à cette cellule.

L'expérience qui vient d'être décrite se traduit par la succession de 3 phases ; au début, l'effet de la muscarine apparaît, car le toxique est plus concentré dans le liquide perfusant que dans le tissu cardiaque ; dans la seconde phase, les concentrations de part et d'autre de la membrane cellulaire s'étant égalisées, l'action pharmacologique disparaît : dans la troisième phase enfin, la concentration de la muscarine est plus importante dans le tissu que dans le milieu extracellulaire et, par suite, l'action du toxique réapparaît.

Des effets de même ordre ont été observés par FELDBERG et SCHILF (1930) et par BARSOUM et GADDUM (1935) ; en examinant les effets d'un contact prolongé d'une forte dose d'histamine avec un intestin isolé de Cobaye, ces auteurs ont constaté que l'organe

a perdu son pouvoir de se contracter à une dose d'histamine qui s'était montrée initialement efficace.

Reprenant l'étude de ce phénomène d'une manière plus étendue, CANTONI et EASTMAN (1946) ont constaté qu'un iléon isolé de Cobaye qui, mis en présence d'histamine à la concentration de  $5.10^{-9}$  donne une contraction de moyenne amplitude, ne réagit plus à cette concentration lorsqu'on provoque une réponse maximale de l'organe en le mettant en présence d'une concentration cent fois plus forte ( $5.10^{-7}$ ) d'histamine et le retour à la sensibilité initiale ne se produit qu'au bout d'un délai de 20 à 30 minutes. Parallèlement, les auteurs ont constaté que cette perte de réactivité de l'organe à l'histamine s'accompagnait d'une disparition de ses contractions pendulaires.

Des résultats de même ordre ont été obtenus par les mêmes auteurs en utilisant l'acétylcholine, la pilocarpine, le chlorure de baryum et l'acétyl  $\beta$  méthylcholine. Il n'est pas possible d'attribuer aux expériences décrites plus haut le moindre caractère de spécificité à l'égard de l'histamine ; en effet, après avoir fait se contracter un segment intestinal isolé au contact d'une forte concentration de pilocarpine ( $10^{-5}$ ), les auteurs ont noté que cet organe a perdu, et pendant une période de 30 minutes environ, sa sensibilité à l'égard de l'histamine.

En revanche, en faisant se contracter un segment isolé d'iléon de Cobaye avec une forte dose de chlorure de potassium, représentant 11 fois la dose contenue dans le liquide de Tyrode, CANTONI et EASTMAN ont constaté que la réponse de l'organe à l'histamine, au lieu de diminuer, atteint une amplitude de moitié plus importante que celle qui avait été notée au début.

En présence de concentrations moins élevées en chlorure de potassium (2 fois la concentration du liquide de Tyrode) il a été observé que la désensibilisation de l'iléon isolé à l'histamine par une dose élevée de cette substance ne se produit plus et l'explication invoquée pour ce phénomène repose sur l'action favorisante exercée par les ions potassium dans la phosphorylation de la créatine ou de l'adénosine et, par suite, dans la biosynthèse de métabolites nécessaires aux phénomènes oxydatifs.

En ce qui concerne les phénomènes de désensibilisation qui surviennent chez les organes isolés à l'égard des catécholamines, on doit citer le travail de PARDO, HONG et LE LORIER (1967) travail au cours duquel les auteurs ont soumis des aortes isolées de Rat, montées selon la technique de FURCHGOTT et BHADRAKOM (1953) à des contacts prolongés et répétés avec l'adrénaline utilisée à différentes concentrations ( $10^{-8}$  à  $10^{-4}$ ). La désensibilisation apparaît déjà nettement pour une concentration de  $10^{-8}$  d'adrénaline laissée

en contact pendant 200 secondes avec l'organe isolé. La contraction des organes était enregistrée au moyen d'un myographe isométrique et d'un transducteur (GRASS polygraph). En appliquant au contact de l'organe isolé une série de doses croissantes, puis de doses décroissantes, les auteurs ont obtenu des "boucles d'hystérésis" dont la forme générale et surtout le décalage entre la branche montante et la branche descendante fournit un moyen d'appréciation et d'analyse du phénomène d'"auto-inhibition" dans des conditions déterminées.

Il apparaît que cette auto-inhibition est d'autant plus intense que les concentrations d'adrénaline sont plus élevées et que les intervalles de temps séparant les additions de deux doses successives sont plus courts.

L'explication donnée par les auteurs à propos de ce phénomène d'auto-inhibition est que la production d'un état réfractaire des effecteurs peut résulter d'une différence entre la demi-vie de la combinaison médiateur-récepteur et la demi-vie de la perturbation excitatrice qui résulte de la formation de cette combinaison.

Ceci impliquerait qu'à tout moment, au cours de l'action du médiateur, il y a une plus grande probabilité d'occupation du récepteur que de l'activation du récepteur, la disparité entre ces deux phénomènes étant plus grande dans le cas des concentrations plus élevées de catécholamines.

C'est ici le lieu d'invoquer la théorie de Paton (1961) suivant laquelle l'excitation provoquée par une drogue stimulante sur un organe dépend davantage de la vitesse avec laquelle s'effectue la combinaison drogue-récepteur que du nombre de récepteurs occupés par la drogue. Selon cette théorie, les réponses devraient dépendre davantage de la relation entre la constante de vitesse d'association et la constante de vitesse de dissociation de la combinaison drogue-récepteur.

Le phénomène envisagé a donc toutes chances de se manifester, sauf dans le cas de substances présentant une très grande vitesse de dissociation de leurs combinaisons avec les récepteurs.

Etudiant le mécanisme de la potentialisation des effets de la noradrénaline sur les organes isolés par différents agents, tels que la cocaïne, des antidépresseurs comme l'amitriptyline, l'imipramine et la désipramine, un antihistaminique, la dexchlorphéniramine et un sympatholytique, la pentholamine, BARNETT, GREENHOUSE et TABER (1967) ont été amenés à étudier sur le canal déférent de Rat les effets de différentes doses de noradrénaline introduites de manière cumulative. Les six composés étudiés se montrent capables d'augmenter la réponse maximale de l'organe isolé à la noradrénaline,

sans se montrer, dans tous les cas, des potentialisants au sens habituel du terme, c'est-à-dire sans provoquer un décalage vers la gauche de la courbe dose-action de la noradrénaline, et les auteurs suggèrent comme explication de ce phénomène la levée de l'auto-inhibition qui s'exerce à l'égard de la noradrénaline au cours de l'introduction au contact de l'organe des doses cumulées de cette amine. La comparaison des réponses obtenues respectivement avec une dose unique de  $10^{-5}$  M de noradrénaline et la même dose introduite en cinq doses réparties en progression géométrique de raison 3.16 (0,5 unité logarithmique) dans l'intervalle de  $1 \times 10^{-7}$  M à  $1 \times 10^{-5}$  M a fait apparaître une différence de 26,1 % qui, pour les auteurs, donne une mesure du taux d'auto-inhibition. Or, cette valeur se rapproche assez étroitement dans les limites de + 17 %, des pourcentages d'accroissement des réponses maximales noradrénergiques observées avec quatre des six composés étudiés (l'imipramine et l'amitriptyline mises à part).

Cette conception de GREENHOUSE et TALER s'oppose à celle qui fait intervenir comme cause principale de la potentialisation l'inhibition de l'uptake de la noradrénaline, (HERTTING et coll. 1961, ISAAC et GOTH, 1965, IVERSEN 1965a et 1965b).

Il semble bien, en tout cas, que cette inhibition de l'uptake de la noradrénaline ne soit pas la cause invoquée de la potentialisation des effets de cette amine. En ce qui concerne le cocaïne, une action à localisation post-synaptique a été déjà évoquée (KASUYA et GOTO, 1968).

L'explication fournie par les auteurs est toutefois passible de critiques dans la mesure où l'augmentation des réponses de la noradrénaline observées sous l'influence de composés comme la cocaïne, la déméthylimipramine, etc.... n'a pas été étudiée à la fois sur l'effet d'une dose unique et sur l'effet de cette même dose introduite cumulativement. Il est bien évident, en effet, que si la réponse donnée par une dose unique de noradrénaline est augmentée par les composés en question, il paraît difficile d'invoquer l'effet déterminant d'un phénomène d'autoinhibition, celui-ci ayant peu de chances de se manifester pendant le court espace de temps où la drogue est laissée en contact avec l'organe.

Tout récemment, PENNEFATHER (1973) a procédé à une comparaison des réponses du canal déférent isolé de rat à l'action des stimulations électriques et à l'action de noradrénaline ajoutée dans le bain de l'organe de manière cumulative et non cumulative.

L'effet cumulatif était obtenu en introduisant au début la noradrénaline en quantité nécessaire pour obtenir une concentration de  $5 \times 10^{-8}$  M dans le bain, puis en ajoutant des doses successives, chacune étant le double de la dose précédente, les additions

étant opérées dès que la réponse de la dose précédente eut atteint son acmé. La réponse maximale d'une dose unique de noradrénaline était obtenue pour une concentration du liquide du bain de  $5 \times 10^{-4}M$  maintenue au contact de l'organe pendant 60 secondes. La comparaison des tensions moyennes développées de façon isométrique au moyen d'un transducteur (GRASS FTO<sub>3</sub>) a montré que la réponse maximale fournie en réponse à la noradrénaline introduite de façon cumulative, était seulement 60 % de la réponse produite par une dose unique supramaximale de cette amine, ces réponses étant exprimées en grammes de tension.

Quant à la réponse fournie par la stimulation électrique de l'organe, elle dépassait le double de celle qu'avait fourni l'addition de la dose supramaximale de noradrénaline.

La comparaison statistique des courbes log dose-réponse obtenues, a permis de calculer, pour chaque expérience, un "rapport d'activité" égal au rapport de la concentration appliquée non cumulativement à la concentration équipotente appliquée cumulativement. Dans le cas où la détermination cumulative a précédé l'essai non cumulatif, les limites inférieures des erreurs fiducielles du rapport d'activité ont été supérieures à 1, ce qui indique que les courbes log dose-réponse cumulative, sont situées à gauche des courbes correspondant aux administrations non cumulatives. Cette constatation ne laisse pas surprendre, étant donné que les réponses maximales obtenues cumulativement ont toujours été inférieures aux réponses maximales non cumulatives.

Un point mérite réflexion, c'est la constatation que la stimulation nerveuse se montre pleinement efficace sur un organe qui a atteint sa réponse maximale sous l'effet de doses cumulatives de noradrénaline. Ce fait semble réduire à néant l'hypothèse selon laquelle la diminution de la réponse maximale, en cas d'addition cumulative de l'agoniste, résulterait d'une désensibilisation spécifique au niveau des récepteurs. Selon PENNEFATHER et, conformément à la "rate theory" de PATON, la capacité pour un complexe drogue-récepteur de produire un transfert ionique ou d'autres phénomènes physico-chimiques nécessaires, conduisant à la contraction des fibres musculaires effectrices, est conditionnée par la vitesse (rate) d'accroissement de la concentration du substrat dans la biophase et, par suite, par la vitesse de formation du complexe drogue-récepteur.

On doit considérer également de quelle façon la réponse mécanique du canal déférent peut se manifester graduellement. Si cette gradation dépend du nombre des fibres musculaires participant à la réponse, le tissu manifestant alors de façon prédominante un comportement "multi-unitaire", (GEWELL, 1968, BURNSTOCK, 1970) on pourrait alors s'attendre à ce que la libération simultanée du transmetteur, sous l'effet de la stimulation électrique, en permettant un

recrutement plus synchrone des unités effectrices, produise un effet maximal plus grand que celui que pourrait produire une élévation lente de la concentration de la noradrénaline ajoutée au milieu.

Cette brève revue des travaux antérieurs étant faite, il convient maintenant de décrire les conditions expérimentales dans lesquelles la méthode des additions cumulatives a été appliquée à l'étude de la réactivité des organes isolés, notamment par ARIENS et son école.

Dans la technique décrite initialement par VAN ROSSUM et VAN BRINK (1963), le segment d'organe isolé (iléon ou jéjunum de Rat ou de Cobaye, canal déférent de Cobaye, aorte de Lapin ou de Rat) est monté selon la technique courante dans un bain de 10 ml de liquide de Tyrode maintenu à 37°C et soumis à un barbotage d'air ou de carbogène. L'extrémité de l'organe est relié à un myographe isotonique ou à inscripteur électronique en relation avec un transducteur. Les doses d'agonistes introduites dans le bain varient selon une séquence telle que la concentration du liquide du bain s'accroît selon une progression géométrique de raison 2 ou 3. L'addition de la première dose, une fois faite, on attend que la réponse ait atteint son développement complet pour introduire la dose suivante et ainsi de suite jusqu'à ce que la contraction de l'organe ait atteint son acmé.

Dans ces conditions, l'inscription des réponses successives que nécessite l'établissement d'une courbe dose-réponse ne demande pas plus de 2 minutes et, après lavage intercalaire pendant 2 à 5 minutes, la courbe suivante peut être enregistrée de sorte que 10 à 30 courbes peuvent être enregistrées en 2-5 heures.

Les exemples fournis par l'auteur, à l'appui de la valeur de cette technique concernent la mise au point des courbes dose-réponse de l'histamine et de composés voisins sur le jéjunum de Cobaye, ainsi que du furtréthonium et de divers esters de la choline sur le duodénum de Rat.

L'établissement des courbes dose-réponse cumulatives et leur analyse ont été mises à profit pour la mesure des paramètres d'action des drogues, à savoir leur affinité et leur activité intrinsèque définies par ARIENS (1954) aussi bien que dans les définitions des différents types d'antagonistes compétitifs ou non compétitifs et celle des agonistes partiels.

Devant la multiplicité des travaux réalisés au moyen de cette technique, il nous a paru intéressant de procéder à son étude critique, afin de juger de la licéité de son emploi en pharmacologie quantitative, en nous demandant si, dans tous les cas, l'intensité

de la réponse fournie par un organe isolé mis au contact d'une dose déterminée d'un certain agoniste, présentait la même intensité selon que cette dose était introduite en une ou en plusieurs fois au contact de l'organe effecteur.



## DEUXIEME PARTIE

### TRAVAUX PERSONNELS

Notre étude a porté sur différents agents contracturants ou relaxants des fibres lisses ou striées : chlorure de potassium, acétylcholine et composés voisins, adrénaline et autre sympathomimétiques, histamine, sérotonine, bradykinine, etc...

Les organes isolés ont été : l'intestin de Rat et de Cobaye, l'aorte de Rat, la trachée de Cobaye, le fundus gastrique de Rat, l'utérus de Rat, le canal déférent et la vésicule séminale du Cobaye et du Rat, le rectus abdominis de la Grenouille, le muscle dorsal de la Sangsue.

### TECHNIQUE D'ETUDE

Nous avons suivi, à peu de choses près, la technique utilisée par VAN ROSSUM et VAN DEN BRINK (1963).

L'organe, prélevé sur l'animal et selon les précautions d'usage, est monté dans une cuve de 10 ou 20 ml de capacité, remplie d'un liquide de survie qui répond, selon les cas, aux formules de RINGER, de KREBS, de TYRODE ou de DE JALON. Ce liquide est soumis à un barbotage d'air, dans le cas du liquide de Tyrode, ou de carbogène, dans le cas des liquides de KREBS et de DE JALON. La température du thermostat a été de 37°C dans les expériences effectuées sur les organes d'homéothermes, sauf dans le cas de l'utérus de Rat (28°C - 31°C). L'extrémité libre de l'organe est mise en relation avec un myographe isotonique chargé d'un poids variant entre 0,5 et 2 g., le rapport d'amplification des deux bras du levier inscripteur était de 1 x 14.

Le relâchement de l'organe étant obtenu au bout d'un temps de repos de 30 minutes, on commence les essais en établissant tout d'abord une gamme de réponses à des doses croissantes d'agoniste afin de vérifier la sensibilité et la fidélité de la préparation pour le composé employé. La réponse de chaque dose étant obtenue

en un temps ne dépassant pas 2 minutes dans la plupart des cas (sauf pour l'aorte isolée). On procède à trois renouvellements successifs du liquide du bain ; l'organe, laissé au repos pendant cinq minutes, a recouvré, en général, son tonus initial.

On procède alors à la comparaison des réponses fournies par l'organe mis en contact d'abord avec la dose d'effet maximal introduite en une seule fois, puis avec la même dose introduite en cinq fois selon les termes de la série suivante :

$$1 + 1 + 2 + 4 + 8$$

chaque dose étant laissée en contact jusqu'à l'achèvement de la réponse partielle, ce qui demande un temps voisin de 30 secondes, l'inscription de la séquence des réponses peut être réalisée en 2 à 3 minutes.

La réalisation d'une gamme de réponses avec des doses croissantes d'agoniste ayant été conduite jusqu'à l'inscription de la réponse maximale par introduction unique, nous avons ensuite procédé à l'inscription d'une deuxième gamme, chacune des doses étant cette fois introduite dans le bain de façon cumulée (cinq additions successives). Nous avons alors constaté que la réponse maximale (E max. c.) observée dans ces conditions est d'intensité nettement plus faible que la réponse maximale (E max. n) obtenue à la suite de l'inscription de la première gamme et que, d'autre part, cette réponse est atteinte de façon plus précoce, c'est-à-dire qu'elle apparaît avec une dose très inférieure à celle qui correspond à la réponse E max. u.

Nous avons exprimé le résultat de chaque expérience en comparant les effets produits avec l'une ou l'autre des deux techniques par la dose ayant fourni la réponse maximale par voie cumulative. Le degré d'inhibition I est alors donné par la formule :

$$I = \frac{E \text{ max. u} - E \text{ max. c.}}{E \text{ max. u}} \times 100$$

Chaque expérience a été répétée, en général, 5 à 6 fois au moins dans les mêmes conditions et les résultats ont été exprimés par la moyenne affectée de son écart-type.

Des essais préliminaires ont été effectués en étudiant les réponses de divers organes isolés (iléon de Cobaye, duodénum ou vésicule séminale de Rat) aux effets contracturants du chlorure de potassium, agoniste pour lequel il paraissait difficile d'envisager la moindre inhibition des effets au contact de l'organe, étant donné sa stabilité chimique et l'impossibilité de la fixation de ce composé sur des lieux de perte.

Or, effectivement, sur tous les organes isolés utilisés, le chlorure de potassium a toujours fourni des réponses contractiles de même intensité quelles qu'aient été les modalités d'introduction globale ou annulée dans le liquide du bain.

Nous avons donc été conduits à étudier le cas des agonistes que l'on savait capables d'être inactivés au contact même des organes isolés et nos premières recherches ont été tout naturellement consacrées à la noradrénaline dont les processus de bio-inactivation sont aujourd'hui parmi les mieux connus, aussi bien in vitro qu'in vivo.



## CHAPITRE I

ETUDE DES REPONSES FOURNIES PAR LA NORADRENALINE  
SUR DIFFERENTS ORGANES ISOLÉS  
ET PHENOMENES D'AUTO-INHIBITION OBSERVÉS

Les effets de la noradrénaline ont été étudiés sur les réponses contracturantes de l'aorte de Rat, du canal déférent du Rat et du Cobaye, de la vésicule séminale du Rat et du Cobaye, ainsi que sur les réponses de relaxation du duodénum de Rat.

Dans un certain nombre de cas, nous avons construit les courbes dose/action tirées des résultats observés sur un organe donné et nous avons constaté que le phénomène d'auto-inhibition se manifeste le plus souvent avec une intensité plus grande pour les fortes doses.

1 - AORTE DE RAT

On a utilisé la technique de FURCHGOTT et BHADRAKOM pour les essais sur cet organe isolé.

Une réponse d'amplitude maximale est obtenue avec une concentration de  $0,5 \text{ à } 1,0 \times 10^{-6} \text{ M}$  de noradrénaline introduite en une fois et le degré d'auto-inhibition observé dans le cas d'une addition cumulative de la même dose répartie en cinq additions a été de  $25,0 \pm 1,97 \%$  (moyenne de sept expériences).

La figure I donne un exemple des tracés obtenus au cours d'une expérience.

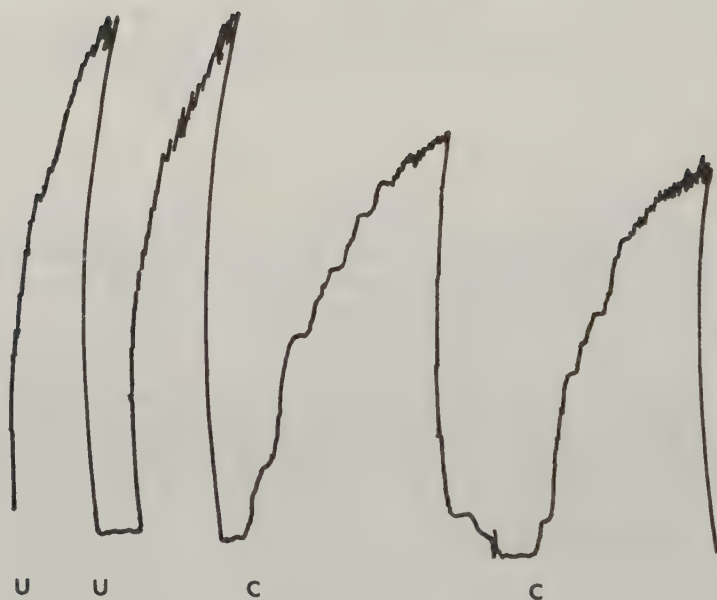


Fig. 1 - Aorte isolée de rat. Noradrénaline  $1,0 \times 10^{-6}$  M.

U. Addition unique. C : Addition cumulative.

## 2 - CANAL DEFERENT DE RAT.

La réponse maximale a exigé une concentration de noradrénaline plus élevée que dans le cas de l'aorte de Rat :  $1,0 \times 10^{-4}$  M, et le degré d'auto-inhibition s'est montré nettement plus élevé :  $60,6 \pm 5,2$  % (moyenne de sept expériences).

La figure 2 représente les courbes dose/réponse obtenues suivant les deux modes d'administration unique et cumulée.

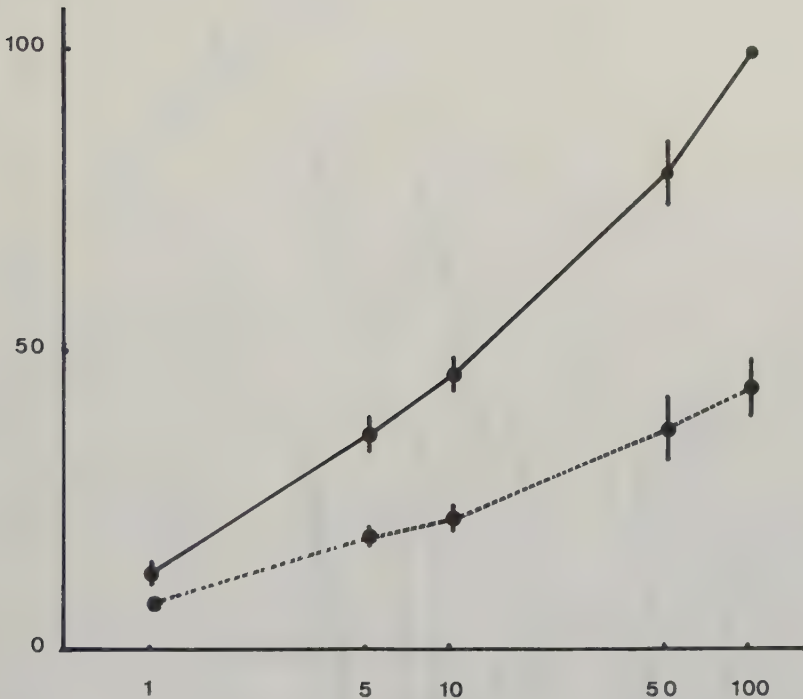


Fig. 2 - Canal déférent isolé de rat. Courbe dose-réponse Noradrénaline. (7 expériences). Additions uniques : ———. Additions cumulatives : - - - - -.  
En abscisses : doses en M  
En ordonnées : % de la réponse maximale par addition unique.

## 3 - CANAL DEFERENT DE COBAYE

La sensibilité de cet organe à la noradrénaline est apparue assez inconstante et il ne nous a pas été possible de tirer de conclusions définitives à partir des essais effectués sur cet organe

#### 4 - VESICULE SEMINALE DE RAT

La vésicule séminale de Rat a fourni une réponse maximale par action cumulative avec une concentration de  $5 \times 10^{-5} \text{ M}$  et le degré d'inhibition s'est montré assez élevé, mais différent selon la saison. Alors que la moyenne obtenue à la suite d'expériences effectuées en hiver a été de  $32,8 \pm 2,1 \%$ , la moyenne calculée à partir des résultats obtenus au printemps a été de  $42,0 \pm 2,3 \%$ .

Il va de soi que les essais comparatifs auxquels nous avons procédé ont été effectués au cours de la même période saisonnière, afin d'éviter d'introduire dans l'appréciation des résultats l'influence d'un facteur de perturbation qui est loin d'être négligeable.

La figure 3 donne un exemple de l'un des tracés obtenus :

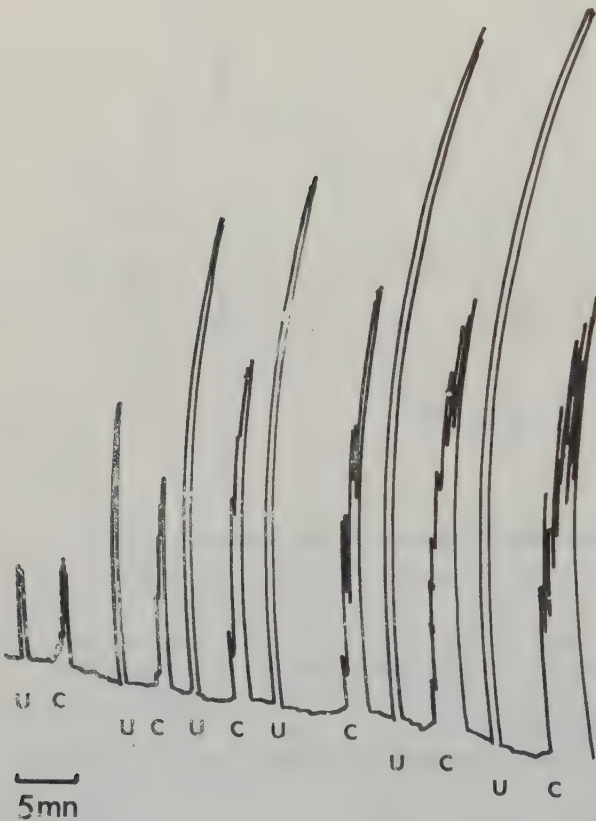


Fig. 3 -  
Vésicule séminale  
de rat. Noradrénaline  
à 0,12 - 0,25 - 0,50 -  
1,2 - 2,5 - et  
 $5,0 \times 10^{-5} \text{ M}$ .  
U : Additions uniques  
C : Additions cumulatives

et les courbes dose/action (fig. 4 et 5) montrent les résultats recueillis respectivement en hiver et au printemps en faisant agir la noradrénaline sur la vésicule séminale par introduction unique ou cumulée de l'agoniste.

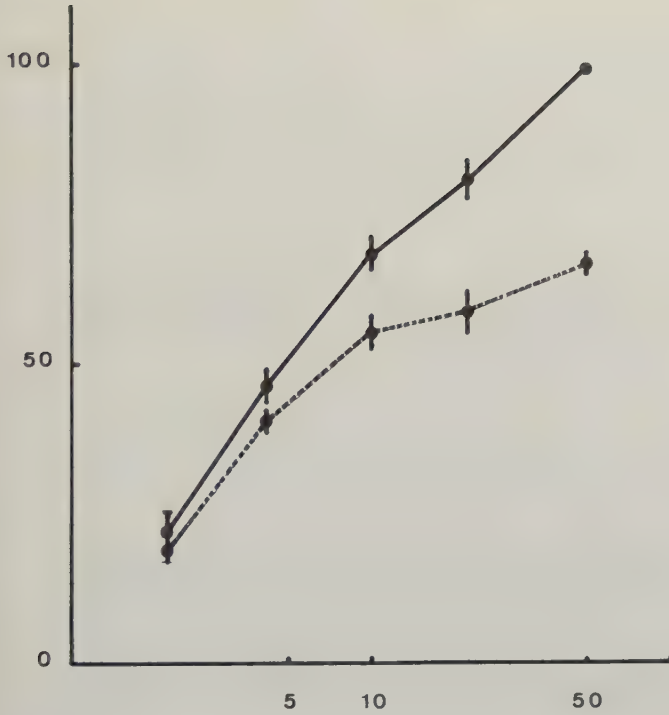


Fig. 4. Vésicule séminale de rat (hiver).  
Courbe dose-réponse.  
Noradrénaline  
(8 expériences)  
Mêmes indications  
que Fig. 2.

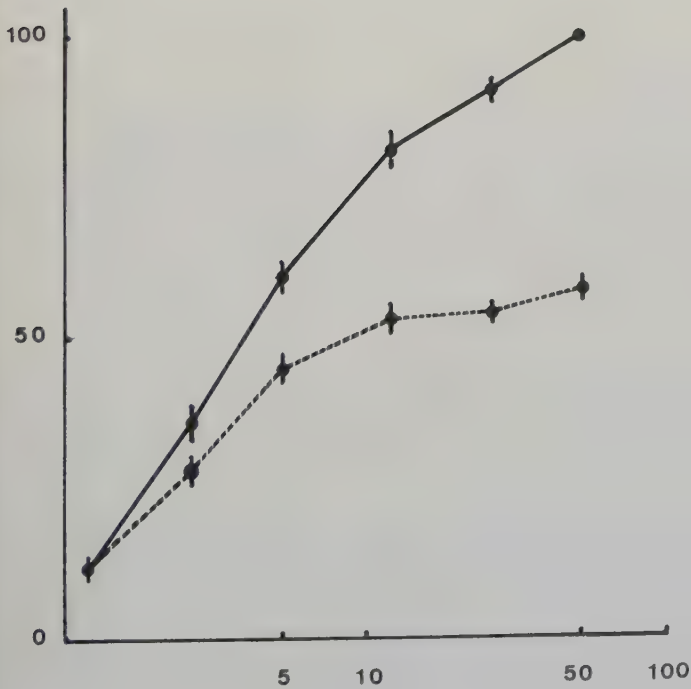


Fig. 5. Vésicule séminale de rat (printemps).  
Courbe dose-réponse.  
Noradrénaline  
(7 expériences)  
Mêmes indications  
que Fig. 2.

## 5 - VESICULE SEMINALE DE COBAYE

Nous avons constaté que la sensibilité de la vésicule séminale de Cobaye à la noradrénaline est moins élevée que celle du Rat, mais aucune inhibition n'a pu être constatée à la suite des essais effectués selon la technique habituelle.

## 6 - DUODENUM DE RAT

La noradrénaline produit sur cet organe une réponse maximale de relaxation à la concentration de  $0,5 \times 10^{-5}$  M, mais aucun phénomène d'auto-inhibition n'est observé.

Il est même arrivé qu'au cours de plusieurs expériences le relâchement constaté à la suite de l'addition d'une dose de noradrénaline effectuée de façon cumulée ait été plus important que la réponse fournie par l'addition en une seule fois de cette même dose.

On trouvera dans le tableau I la récapitulation des résultats obtenus avec la noradrénaline agissant sur les différents organes isolés utilisés.

TABLEAU 1 - Degrés d'auto-inhibition observés avec la noradrénaline sur différents organes isolés.

|                             |                                      |
|-----------------------------|--------------------------------------|
| Aorté de rat                | $25,0 \pm 2,0$                       |
| Canal déférent de Rat       | $60,6 \pm 5,2$                       |
| Canal déférent de Cobaye    | 0                                    |
| Vésicule séminale de Rat    | $(32,8 \pm 2,1 \text{ (hiver)})$     |
| Vésicule séminale de Cobaye | $(42,0 \pm 2,3 \text{ (printemps)})$ |
| Duodénum de Rat             | 0                                    |

## CHAPITRE 2

ETUDE DES REPONSES OBTENUES AVEC LA NORADRENALINE  
 A LA SUITE DE DIVERS TRAITEMENTS APPLIQUES,  
 SOIT IN VITRO SOIT IN VIVO.

Parmi les facteurs capables d'intervenir comme causes déterminantes dans le phénomène d'auto-inhibition qui se manifeste dans le cas de la noradrénaline, nous avons tout naturellement envisagé les différents processus d'inactivation qui peuvent prendre naissance au sein d'un organe isolé et, plus particulièrement, les processus dont le rôle est bien établi dans la terminaison des effets de la noradrénaline et des médiateurs appartenant au même groupe des catécholamines. A cet égard, deux types de phénomènes sont à distinguer et sur lesquels les travaux d'AXELROD et de son école ont bien mis l'accent : la fixation intra-neuronale ("uptake") et la dégradation métabolique. Nous avons donc cherché à neutraliser ces différents processus de manière à voir dans quelle mesure leur élimination atténuerait ou ferait disparaître le phénomène d'auto-inhibition. Pour cela, nous avons eu recours, soit à des agents bloquant la fixation intra-neuronale ("uptake") ou le stockage, soit à des inhibiteurs d'enzymes comme la mono-amine oxydase ( M A O ) ou le catéchol O-méthyl transférase ( C O M T ), dont le rôle métabolique est bien connu, soit à l'action conjuguée de ces différents composés.

Certains de ces agents ont été injectés à l'animal chez lequel était prélevé l'organe à utiliser ; pour d'autres, l'administration a été faite in vitro dans le bain de liquide de survie où l'organe était plongé.

Nos expériences ont toutes été pratiquées sur la vésicule séminale de Rat, en raison de l'ampleur de l'inhibition observée sur cet organe (v. chapitre précédent).

# I - INHIBITEURS DE LA FIXATION ET DU STOCKAGE DE NORADRENALINE.

*Quatre*

Trois composés très différents ont été utilisés : la réserpine, la cocaïne, la désipramine et la guanéthidine.

## a) Réserpine :

On sait que la réserpine bloque sélectivement la fixation ("uptake") et l'accumulation ("storage") des catécholamines dans les granules de stockage (PLETSCHER, SHORE et BRODIE, 1955, KIRSHNER, 1962, v. EULER et LISHAJKO, 1963) ; par un processus de rétroaction ("feed back"), ce blocage entraîne l'inhibition de la tyrosine hydroxylase ; de plus, il se produit sous l'effet de la réserpine un freinage de la transformation de la dopamine en noradrénaline, cet effet résultant de l'incapacité du substrat à pénétrer dans les granules dans lesquelles l'enzyme est localisée.

D'après HILLARP et MALMFORS (1964) le lieu d'action de la réserpine se trouve à l'intérieur des terminaisons nerveuses adrénergiques dans la membrane des vésicules où cet alcaloïde inhibe les mécanismes de transport actifs responsables du transfert et de l'accumulation de la noradrénaline dans les vésicules à partir de l'axoplasme.

Nous avons fait agir cet alcaloïde in vivo chez le Rat à la dose de 2 mg par kg par jour, pendant 3 jours, par voie intra-péritonéale.

Après prélèvement des vésicules séminales, et montage de ces organes, nous avons observé que l'intensité de l'inhibition des réponses à la noradrénaline présentait une différence significative avec les résultats fournis par les organes prélevés sur des animaux non traités :  $33,8 \pm 2,0$  %, au lieu de  $42,0 \pm 2,3$  % (moyenne de 12 expériences).

Bien que, selon les constatations de FLEMING et TRENDELENBURG (1961) l'action déplétrice de la réserpine à l'égard des réserves de noradrénaline se montre nettement moins intense sur les organes génitaux mâles que sur d'autres organes communément utilisés pour ce genre de recherches (coeur, glandes sous-maxillaires), nous constatons que l'influence de la réserpine apparaît nettement sous la forme d'une réduction marquée du taux d'inhibition des réponses noradrénaliques, phénomène que l'on peut imputer sans doute à une moindre inactivation de l'agoniste au contact de l'organe.

b) Cocaïne :

La cocaïne potentialise les réponses à la noradrénaline de certains organes isolés et l'explication fournie par de nombreux auteurs réside dans le blocage de la fixation et de l'accumulation de ce médiateur à l'intérieur des fibres adrénergiques (Ms MILLAN, 1959, MUSCHOLL, 1961, FURCHGOTT et coll., 1963, TRENDLENBURG, 1965, DENGLE et coll., 1961, IVERSEN, 1963, MALMFORS, 1965, VAN ZWIETEN et coll. 1965).

Toutefois, cette explication a été critiquée au cours de ces récentes années et une interprétation moins univoque a été formulée faisant état d'une action directe, post synaptique de la cocaïne sur les éléments contractiles des organes et les effets synergiques n'étant d'ailleurs pas limités à la noradrénaline, (MAXWELL, 1965 ; MAXWELL et coll. 1962, 1966 ; BEVAN et VERITY, 1967 ; KALSNER et NICKERSON, 1968 et 1969 ; VARNA et McCULLOUGH, 1969 ; KASUYA et GOTO, 1968 ; LESZKOWSKY et TARDOS, 1968 ; BARNETT, STAUB et SYMCHOWICZ, 1969).

Il est à signaler cependant que l'effet potentialisant qu'exerce la cocaïne sur les réponses à la noradrénaline n'a pas été observé sur tous les organes isolés, notamment sur le duodénum de Lapin : ROSZKOWSKI et KOELLE, 1960 ; STAFFORD, 1963.

Nos expériences effectuées sur la vésicule séminale ont consisté à traiter ces organes in vitro par la cocaïne à la concentration de  $10^{-5}$ M pendant une minute avant l'addition de noradrénaline. Dans ces conditions, nous avons constaté que le degré d'auto-inhibition se montre nettement moins élevé que sur les organes des animaux témoins :  $26,4 \pm 3,0$  % (moyenne de 8 expériences) au lieu de  $42,0 \pm 2,3$  % (fig. 6).

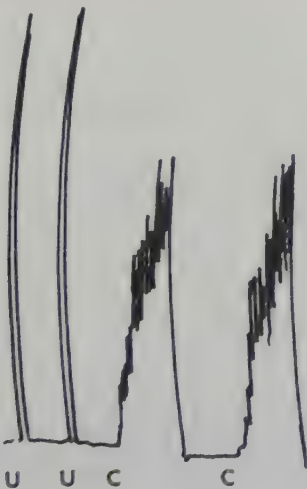


Fig. 6 - Vésicule séminale de rat.  
Noradrénaline  $5,0 \times 10^{-5}$  M. en  
présence de Cocaïne  $1,0 \times 10^{-5}$  M.  
U : Additions uniques.  
C : Additions cumulatives.

c) Désipramine

Les antidépresseurs tricycliques dont l'imipramine est le chef de file, agissent d'une manière un peu analogue à la cocaïne en bloquant la pénétration et la fixation du médiateur noradrénalinique dans les terminaisons synaptiques, la membrane axonale étant rendue moins perméable à cette amine (CARLSSON, 1966).

Le dérivé déméthylé de ce composé, la désipramine, s'est montré, d'après les résultats d'IVERSEN (1967) l'inhibiteur le plus actif ; sur le coeur de Rat, à la concentration de  $1,3 \times 10^{-8}$  M ce composé produit en effet, une diminution de 50 % du taux de fixation de la noradrénaline. Il résulte de là que ce composé exerce un effet sensibilisant des divers organes effecteurs à l'égard de ce transmetteur.

Nous avons fait agir la désipramine (DMI) *in vivo* par voie intraveineuse à la dose de 0,3 mg/kg. Les animaux sont sacrifiés 30 minutes après et les vésicules séminales prélevées.

Dans ces conditions, nous avons constaté que le degré d'auto-inhibition des réponses noradrénaliniques était assez fortement diminué, le pourcentage obtenu étant de  $25,2 \pm 4,5$  (moyenne de 8 expériences) au lieu de  $42,0 \pm 2,3$  (fig. 7) :



Fig. 7 - Vésicule séminale de rat.  
Noradrénaline  $5,0 \times 10^{-5}$  M.  
Prétraitement des animaux : D.M.I.  
0,3 mg/kg I.V.  
U : Additions uniques.  
C : Additions cumulatives.

L'inhibition de l'uptake provoquée par la désipramine et, par suite, la réduction du taux d'inactivation de la noradrénaline a donc pour résultat de s'opposer en partie au phénomène d'auto-inhibition, comme nous l'avons constaté dans le cas de la cocaïne.

d) Guanéthidine :

La guanéthidine, par un effet qui s'apparente à celui de la réserpine, agit sur l'accumulation de la noradrénaline dans les granules de stockage des terminaisons adrénergiques (CASS, 1960).

Toutefois, alors que la réserpine pénètre dans les tissus par diffusion passive, en raison de sa liposolubilité, et ne persiste pas longtemps dans ses lieux de fixation, la guanéthidine, peu liposoluble aux pH physiologiques, est entraînée par un transport actif et se fixe durablement dans les vésicules, d'où elle peut être libérée par stimulation nerveuse.

On sait que les réserves de noradrénaline sont réparties entre différentes aortes de compartiments (ou "pools") à l'intérieur des terminaisons sympathiques, ces dépôts présentant des degrés de mobilité différente à l'égard des agents déplétants : HERTTING et coll. (1962) KOPIN et GORDON (1962).

D'après CROUT (1964) la fraction de noradrénaline la plus facilement libérable se trouve dans les vésicules de stockage situées le plus près de la membrane des neurones et c'est sur cette fraction du médiateur que s'exerce l'action "déplétrice" de la tyramine.

Du fait que la guanéthidine pénètre dans ces derniers par un mécanisme de transport actif, la noradrénaline déplacée initialement doit tirer son origine de la fraction qui est située à la périphérie et qui est apte à traverser la membrane pour gagner la circulation sanguine, sans entrer en contact avec les mitochondries riches en monoaminoxydase (MAO) et l'on s'explique ainsi l'action sympathomimétique de la guanéthidine.

Dans le cas de la réserpine, au contraire, la plus grande partie de la noradrénaline libérée à partir des granules est détruite par la MAO et l'effet sympathomimétique disparaît, faute de médiateur disponible. De plus, la noradrénaline libérée par la réserpine se distingue par son faible taux de renouvellement (turnover) de celle qui est déplétée par la guanéthidine et dont le taux de renouvellement est élevé (MUSKUS, 1962).

Nos expériences ont utilisé l'action de la guanéthidine in vivo par injection intra-veineuse lente au Rat (1 ml en 3 min.) à la dose de 10 mg. par kg.

Le degré d'auto-inhibition observé a été de  $47,8 \pm 1,0$  (moyenne de 6 expériences).

On peut donc déduire de ce résultat qu'en dépit de l'effet inhibiteur exercé par la guanéthidine sur l'inactivation de la noradrénaline par le processus d'accumulation intragranulaire, non seulement le phénomène d'auto-inhibition n'a pas été diminué, mais il s'est montré en légère augmentation par rapport au pourcentage normal de  $42,0 \pm 2,3$ .

e) Effets de l'énervation chronique de la vésicule séminale.

En présence des résultats que nous avons obtenus avec certains agents inhibiteurs de la fixation intraneuronale de la noradrénaline qui, comme la cocaïne, diminuent de manière significative le degré d'inhibition observé sur la vésicule séminale, nous avons été conduits à étudier sur ce phénomène les effets de l'énervation chronique de l'organe considéré. On sait, en effet, depuis les travaux de HERTTING et coll. (1961) que les organes éternés sont incapables d'accumuler la noradrénaline. BURN et RAND (1959) avaient attribué à cette disparition du médiateur adrénergique la sensibilisation des organes à l'injection de ce même composé, mais cette conception a été critiquée par TRENDLENBURG, en tenant compte de la répartition au sein de l'organe, de stocks de médiateurs répartis en plusieurs compartiments, à partir desquels le sort de la noradrénaline peut être différent, du fait de la disparité des taux de renouvellement (turnover).

Chez le Rat anesthésié par le mébubarbital (nembutal) à la dose de 50 mg/kg par voie intrapéritonéale, nous avons procédé après laparotomie médiane à la section des deux nerfs hypogastriques.

Après une attente de trois semaines, temps nécessaire à la dégénérescence des éléments nerveux, les vésicules séminales sont prélevées et montées selon la technique habituelle.

Or, contrairement à ce que l'on aurait pu prévoir, ces organes éternés n'ont pas présenté d'hypersensibilité à l'action de la noradrénaline et le degré d'auto-inhibition a atteint un pourcentage de  $39,4 \pm 2,4$ , chiffre non significativement différent de celui qui a été observé sur les vésicules séminales intactes.

Les travaux de SJOSTRAND (1965) apportent peut être l'explication du fait observé. Cet auteur a montré, en effet, que la dénervation par section des nerfs hypogastriques n'a pas d'effet sensible sur la teneur en noradrénaline des organes génitaux mâles chez le Lapin, le Rat ou le Cobaye. Rappelons, d'autre part, que l'effet sur ces organes des agents dépléteurs comme la réserpine,

se montre beaucoup plus lent et moins profond sur leur taux en noradrénaline, que l'effet produit sur d'autres organes comme le coeur et les glandes salivaires. Ces différences observées dans les taux de déplétion en médiateur seraient peut-être imputables aux propriétés particulières des neurones adrénergiques courts qui innervent les organes génitaux.

En conclusion de ce chapitre, nous pouvons dire que les inhibiteurs de l'uptake : cocaïne et désipramine, agissant, la première in vitro, le second in vivo s'opposent, dans une large mesure, au phénomène d'auto-inhibition qui se produit au cours de l'action de la noradrénaline sur la vésicule séminale isolée de rat. En ce qui concerne les inhibiteurs de stockage, la réserpine et la guanéthidine injectées l'une et l'autre à l'animal, se distinguent très nettement en ce sens que la réserpine seule provoque une réduction sensible du phénomène d'auto inhibition, objet de notre étude.

## 2 - INHIBITEURS D'ENZYMES IMPLIQUES DANS LE METABOLISME DE LA NORADRENALINE.

### a) Inhibiteurs de la Monoamine oxydase :

De l'avis de la plupart des auteurs, le rôle de la monoamine oxydase ( MAO ) dans la dégradation métabolique de la noradrénaline au niveau des tissus périphériques est assez restreint. C'est ainsi que l'inhibition de la MAO par l'iproniazide ne prolonge pas l'action des catécholamines sur la membrane nictitante du Chat (GRIESEMER et coll., 1953). En revanche, on sait que cette enzyme diminue considérablement les effets pharmacologiques de la  $\beta$  phényléthylamine et de la tyramine, ces composés étant rapidement transformés par désamino-oxydation. Selon BRODIE (1959 et 1963) le rôle de la mono-amino-oxydase, dans les conditions physiologiques, se limiterait à une régularisation des niveaux d'accumulation de la noradrénaline dans les terminaisons sympathiques.

Nous avons étudié, en premier lieu, les effets d'un traitement préalable de l'animal donneur par l'iproniazide, à la dose de (200 mg/kg par voie i.p.) sur les réponses de la vésicule séminale isolée à la noradrénaline.

Dans ces conditions, le degré d'inhibition de cet organe n'a atteint qu'un pourcentage de  $29,1 \pm 2,3$  (moyenne de 12 expériences) (fig. 8).



Fig. 8 - Vésicule séminale de rat.  
Noradrénaline  $5,0 \times 10^{-5}$  M.  
Prétraitement des animaux avec  
Iproniazide 100 mg/kg/24 h pendant  
2 jours.  
U : Additions uniques.  
C : Additions cumulatives.

Ce chiffre accuse donc une nette diminution par rapport à la valeur trouvée sur les animaux n'ayant pas subi ce prétraitement.

Le nialamide, autre IMAO, a été étudié in vitro par introduction, dans le bain d'une concentration égale à  $10^{-4}$  M laissée en contact pendant une heure. Le degré d'auto-inhibition observé a été de  $41,1 \pm 2,8$  % (moyennes de 9 expériences).

D'autres IMAO ont été étudiés, qui associent à leur pouvoir d'inhiber la monoamino-oxydase celui d'entraver plus ou moins la fixation intra-neuronale de la noradrénaline. D'après les chiffres fournis par IVERSEN (1967), les trois composés en question se classent, quant à leur pouvoir inhibiteur de la fixation (uptake) dans l'ordre :

Tranlylcypromine  $\text{>}$  Phénelzine  $\text{>}$  Isocarboxazide

Ces trois composés ont été étudiés in vitro à la concentration uniforme de  $10^{-5}$  M, mais en adoptant un temps de contact de 60 minutes.

Le tableau 2 résume les résultats obtenus, les chiffres entre parenthèses indiquant le nombre d'expériences effectuées dans chaque cas.

**TABEAU 2** - Degrés d'inhibition obtenus avec la noradrénaline, agissant sur la vésicule séminale isolée de Rat, en présence de différents IMAO :

IMAO

|                 |   |                |      |
|-----------------|---|----------------|------|
|                 | : |                |      |
| TRANLYCYPROMINE | : | $23,3 \pm 3,2$ | (6)  |
| PHENELZINE      | : | $33,5 \pm 2,4$ | (12) |
| ISOCARBOXAZIDE  | : | $41,0 \pm 4,0$ | (8)  |

Les chiffres de ce tableau montrent que les trois IMAO agissant in vitro ont des effets qui, pour deux d'entre eux sont moins accusés que l'action trouvée pour l'iproniazide agissant in vivo, mais il est à remarquer que ces trois IMAO se classent, en ce qui concerne leur effet sur le phénomène d'auto-inhibition dans l'ordre indiqué par IVERSEN, quant à l'influence qu'ils exercent sur la fixation intraneuronale de la noradrénaline.

b) Inhibiteurs de la catéchol 0-méthyl transférase :

Depuis les travaux de BACQ et coll. (1959) consacrés aux propriétés inhibitrices révélées par le pyrogallol à l'égard de la catéchol 0-méthyl transférase, de nombreux autres composés se sont montrés doués de cette même propriété, notamment d'autres ortho-diphénols et des dérivés de la tropolone (MURNAGHAN et coll. 1963).

Nos expériences se sont toutefois bornées à l'étude du pyrogallol, mais nous avons étudié, dans d'autres conditions, les effets de l'association de ce composé avec l'iproniazide, inhibiteur de la monoamine-oxydase.

Le pyrogallol a été administré, in vivo à la dose de 50 mg/kg par voie intrapéritonéale, et les animaux ont été sacrifiés 30 minutes après.

La valeur du degré d'auto-inhibition à l'égard de la noradrénaline a atteint alors un pourcentage de  $42,5 \pm 1,6$  (moyenne de 9 animaux) chiffre presque identique par conséquent à celui qui a été observé à partir des organes prélevés sur des Rats non traités.

Le traitement des animaux, avec l'association d'iproniazide et de pyrogallol a consisté à injecter par voie intrapéritonéale le premier composé à la dose de 100 mg/kg par jour pendant deux jours, puis, 30 minutes après la dernière injection d'iproniazide, le deuxième composé à la dose de 50 mg/kg par voie également

intrapéritonéale, les animaux étant sacrifiés 30 minutes après.

Or, ce traitement combiné n'a pas sensiblement modifié le résultat précédemment obtenu avec le pyrogallol seul, le pourcentage observé ayant été de  $42,8 \pm 2,9$ , chiffre pratiquement identique au précédent.

### 3 - EFFETS DE TRAITEMENT COMBINANT L'ASSOCIATION D'INHIBITEURS ENZYMATIQUES AVEC DES INHIBITEURS DE LA FIXATION INTRANEURONALE.

#### a) Réserpine et iproniazide

La réserpine a été injectée par voie intrapéritonéale à la dose de 2,5 mg/kg par jour, pendant 2 jours, et l'iproniazide à la dose de 100 mg/kg par jour, également pendant deux jours, les animaux ayant été ensuite sacrifiés une heure après la dernière injection.

Le degré d'auto-inhibition, trouvé à la suite de ce traitement combiné, a atteint un pourcentage de  $38,9 \pm 1,0$  (moyenne de 9 expériences).

C'est dire que ce traitement combiné n'a montré aucune activité sur la réduction du degré d'auto-inhibition normal de la noradrénaline, contrairement à l'activité manifestée par la réserpine ( $33,8 \pm 2,0$  %) et surtout par l'iproniazide ( $29,1 \pm 2,3$  %) utilisés seuls.

#### b) Désipramine et pyrogallol :

La désipramine a été administrée par voie intraveineuse à la dose de 0,3 mg/kg ; le pyrogallol a ensuite été injecté par la même voie, à la dose de 5 mg/kg, les animaux ayant été sacrifiés 30 minutes après.

Dans ces conditions, le degré d'auto-inhibition a présenté une valeur très faible, le pourcentage ayant été de  $11,1 \pm 4,0$  (moyenne de 12 expériences), donc nettement inférieur au résultat cité plus haut et concernant l'effet de la désipramine administrée in vitro :

( $45,3 \pm 1,8$ ) (fig. 9).

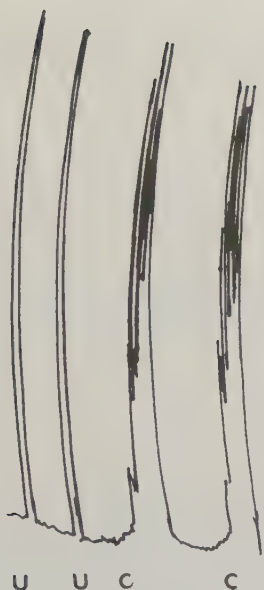


Fig. 9 - Vésicule séminale de rat.  
Noradrénaline  $5,0 \times 10^{-5}$  M.  
Prétraitement des animaux avec  
DMI - 0,3 mg/kg I.V. et avec  
pyrogallol - 5 mg/kg I.V.  
U : Additions uniques.  
C : Additions cumulatives.

Il faut insister que ce résultat qui est le plus net de tous ceux que nous avons obtenus. La démonstration est ainsi apportée que le blocage simultané de la fixation intraneuronale de la noradrénaline et de sa transformation métabolique par le Catéchol O-méthyl transférase vient limiter son inactivation in vitro et, par conséquent, s'oppose en grande partie au phénomène d'auto-inhibition révélé par cette catécholamine.

Il nous paraît intéressant, pour clore ce chapitre, de résumer sous la forme d'un tableau, les résultats obtenus à la suite des expériences effectuées sur la vésicule séminale de Rat et ayant consisté à associer l'action de la noradrénaline à celles d'agents pharmacologiques capables, après administration à l'animal ou in vitro au contact de l'organe, de modifier la fixation et le stockage du neuro-médiateur ou d'inhiber les enzymes intervenant dans le métabolisme de celui-ci.

**TABEAU 3** - Influence de différents agents pharmacologiques sur le degré d'inhibition des réponses à la noradrénaline fournies par la vésicule séminale isolée de rat.

|                            | Dose ou concentration | Voie d'administration | Degré d'auto-inhibition                  |
|----------------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------------------------|
| Témoins<br>(noradrénaline) |                       |                       | $32,8 \pm 2,1$ (a)<br>$42,0 \pm 2,3$ (b) |
| Réserpine                  | 5 mg/kg               | in vivo<br>(i.p.)     | $33,8 \pm 2,0$                           |
| Cocaïne                    | $10^{-5}$ M           | in vitro              | $26,4 \pm 3,0$                           |
| Désipramine                | $10^{-6}$ M           | in vivo<br>(I.V.)     | $25,2 \pm 4,5$                           |
| Guanéthidine               | 10 mg/kg              | in vivo               | $47,8 \pm 1,0$                           |
| Iproniazide                | 200 mg/kg             | in vivo<br>(i.p.)     | $29,1 \pm 2,3$                           |
| Tranlylcypromine           | $10^{-5}$ M           | in vitro              | $23,3 \pm 3,2$                           |
| Phénelzine                 | $10^{-5}$ M           | in vitro              | $33,5 \pm 2,4$                           |
| Isocarboxazide             | $10^{-5}$ M           | in vitro              | $41,0 \pm 4,0$                           |
| Pyrogallol                 | 50 mg/kg              | in vivo I.V.          | $36,2 \pm 2,9$                           |
| (Iproniazide               | 100 mg/kg             | in vivo               | $42,8 \pm 2,9$                           |
| (                          |                       | (i.p.)                |                                          |
| (Pyrogallol                | 50 mg/kg              | in vivo               | (i.p.)                                   |
| (                          |                       | (i.p.)                |                                          |
| (Réserpine                 | 5 mg/kg               | in vivo               | $38,9 \pm 1,0$                           |
| (                          |                       | (i.p.)                |                                          |
| (Iproniazide               | 100 mg/kg             | in vivo               | (i.p.)                                   |
| (                          |                       | (i.p.)                |                                          |
| (Désipramine               | 0,3 mg/kg             | in vivo               | $11,1 \pm 4,0$                           |
| (Pyrogallol                | 5 mg/kg               |                       |                                          |

(a) - résultats obtenus en hiver

(b) - résultats obtenus en été.

## CHAPITRE 3

ETUDE DES REPONSES OBTENUES AVEC DIFFERENTS AMINES  
SYMPATHOMIMETIQUES AUTRES QUE LA NORADRENALINE

Les expériences réalisées à la suite de celles qui viennent d'être rapportées au sujet des effets de la noradrénaline ont porté sur deux autres catécholamines, l'adrénaline et la dopamine, et sur d'autres amines sympathomimétiques d'origine non biologique comme la phényléphrine, l' $\alpha$  méthyl-noradrénaline, le métaraminol et la p. hydroxy noréphédrine. Sans doute aurait-il été intéressant d'étendre cette série d'expériences à d'autres dérivés de la phényl isopropylamine, tels que l'éphédrine, l'amphétamine et leurs dérivés, mais l'effet tachyphylactisant de ces composés créait un obstacle sérieux à la comparaison de la succession de réponses sur les organes isolés, et d'ailleurs la plupart de ces amines ne sont pas actives sur la vésicule séminale isolée de Rat.

1) Adrénaline.

Nous avons étudié les effets de cette amine sur deux organes différents.

Sur le canal déférent du Rat à la concentration de  $1,0 \cdot 10^{-5}$  M, le degré d'inhibition de l'adrénaline s'est montré élevé, atteignant  $65,9 \pm 2,6$  (moyenne de 8 expériences) (Fig. 10).

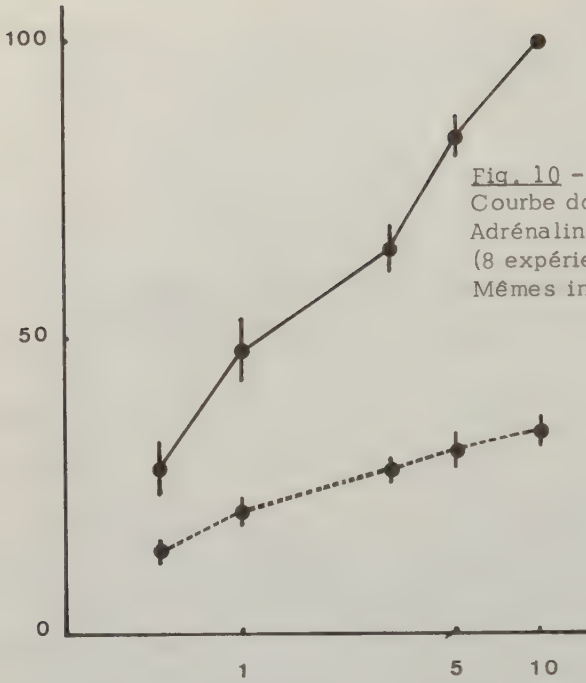


Fig. 10 - Canal déférent de rat.  
Courbe dose-réponse.  
Adrénaline.  
(8 expériences)  
Mêmes indications que Fig. 2.

Rappelons que le résultat fourni par la noradrénaline sur cet organe était de  $60,6 \pm 5,2$ , donc non significativement différent.

Sur la vésicule séminale de Rat à la concentration de  $50 \times 10^{-5}$  M, le degré d'inhibition de l'adrénaline a été de  $48,7 \pm 2,7$  (moyenne de 9 expériences (figure II)).

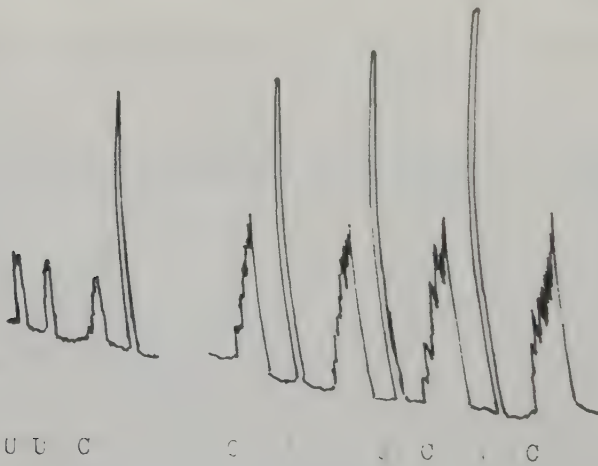


Fig. 11 - Vésicule  
séminale de rat.  
Adrénaline à  
0,25 - 0,50 - 1,0 -  
2,5 et 5,0 x 10<sup>-5</sup> M

ce qui indique que l'auto-inhibition de l'adrénaline est, sur cet organe, un peu plus élevée que celle de la noradrénaline ( $42,0 \pm 2,3$ ).

La figure 12 représente la courbe dose/réponse obtenue avec l'adrénaline sur la vésicule séminale de Rat.

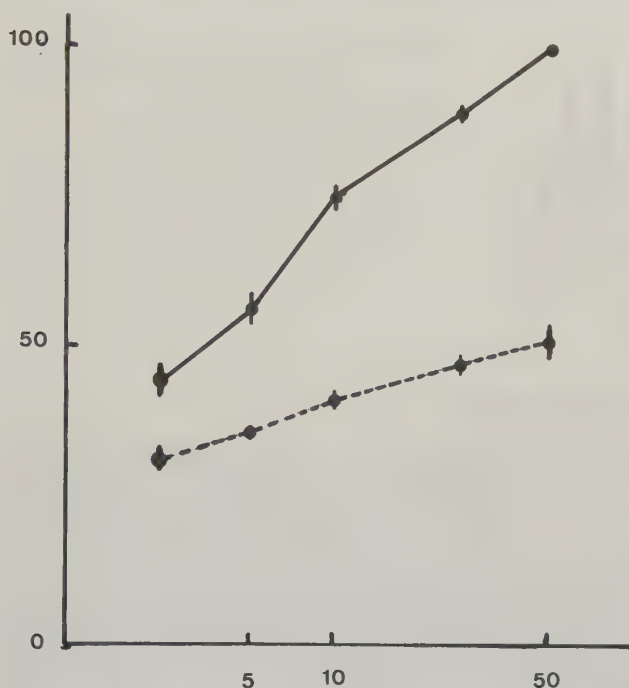


Fig. 12 - Vésicule séminale de rat.  
Courbe dose-réponse Adrénaline.  
(9 expériences).  
Mêmes indications que fig. 2.

## 2) Phényléphrine.

Sur ce même organe, nous avons observé pour cette amine à la concentration de  $5,0 \times 10^{-4}$  M un degré d'inhibition de  $40,8 \pm 1,8$  (moyenne de 9 expériences) donc très voisin de ceux qui ont été observés sur cet organe avec l'adrénaline et la noradrénaline (fig. 13).



Fig. 13 - Vésicule séminale de rat. Phényléphrine  $4,8 \times 10^{-5}$  M.  
U : Additions uniques.  
C : Additions cumulatives.

### 3) $\alpha$ méthyl noradrénaline.

Le degré d'inhibition observé sur la vésicule séminale s'est montré relativement faible. Pour une concentration de  $5 \cdot 10^{-5}$  M, le pourcentage obtenu a été de  $19,4 \pm 2,9$  (moyenne de 10 expériences). On sait que ce composé se comporte comme un "faux médiateur" capable de dépléter les catécholamines de leurs lieux de stockage ; d'autre part, la présence dans la molécule d'une substitution méthylée en  $\alpha$  lui confère une résistance particulière à l'égard de la monoamine oxydase, ce qui lui permet d'échapper en partie aux processus d'inactivation qui se déroulent au sein des organes.

### 4) Métaraminol.

Comme l'amine précédente, ce composé est un puissant libérateur et dépléteur des catécholamines ; il exerce ses effets, en partie par médiation noradrénalinique, en partie par voie directe. (UDENFRIEND et ZALTZMAN - NIRENBERG, 1962).

D'autre part, ce composé résiste également à la dégradation métabolique par la monoamine oxydase.

Au cours de nos expériences, le métaraminol comme la dopamine n'a provoqué sur la vésicule séminale de Rat, aucune auto-inhibition à la concentration de  $2,5 \times 10^{-5}$  M.

Quant à son isomère, la p. hydroxy noréphédrine, il n'a montré qu'une très faible activité contracturante sur l'organe isolé considéré.

De l'ensemble des résultats expérimentaux exposés dans ce chapitre, on peut tirer deux conclusions principales :

D'une part, les amines sympathomimétiques  $\alpha$  méthylées qui constituent de mauvais substrats pour la mono-amine oxydase et, de ce fait, présentent une résistance particulière aux processus métaboliques, ne donnent lieu qu'à un taux d'auto-inhibition faible, comme c'est le cas de l' $\alpha$  méthyl noradrénaline, ou nul, comme c'est le cas du métaraminol.

D'autre part, la dopamine ne présente pas non plus le moindre indice d'auto-inhibition dans les réponses qu'elle fournit sur la vésicule séminale de Rat et peut-être est-il prématuré d'imputer à l'absence d'un groupement hydroxylé en  $\beta$  dans la molécule de ce composé, le fait qu'il résiste aux réactions métaboliques auxquelles la noradrénaline et l'adrénaline sont sensibles.



## CHAPITRE IV

ETUDE DES REPONSES OBTENUES AVEC DIVERS AGENTSCONTRACTURANTS DE LA FIBRE LISSEAUTRES QUE LES AMINES SYMPATHOMIMETIQUES

Nos expériences ont porté sur quatre agents contracturants, l'acétylcholine, l'histamine, la sérotonine, et la bradykinine.

Acétylcholine.

L'action de cet agoniste a été étudiée successivement sur six organes isolés différents, le canal déférent, l'iléon et la trachée de Cobaye, le fundus gastrique et l'utérus de Rat, le muscle dorsal de la Sangsue.

Or, nous avons été surpris de constater que, malgré l'instabilité réputée de l'acétylcholine dans les milieux biologiques et l'ubiquité de la cholinestérase dans les tissus, l'auto-inhibition n'est apparue que dans les expériences effectuées sur un seul de ces organes, le canal déférent de Cobaye.

Ici, contrairement à ce qui a été observé dans la plupart des cas, le degré maximum d'auto-inhibition ne se produit pas dans le cas de la dose d'effet maximal de l'agoniste. Nous avons observé, en effet, pour cette dose DE max, qui correspond à  $5 \times 10^{-4}$  M, un degré d'auto-inhibition de  $16,5 \pm 4,3$ , alors qu'avec une concentration plus faible de  $5 \times 10^{-5}$  M, le degré d'auto-inhibition s'est élevé à  $45,3 \pm 3,4$ . La figure 14 représente la courbe dose/réponse obtenue dans ces conditions.

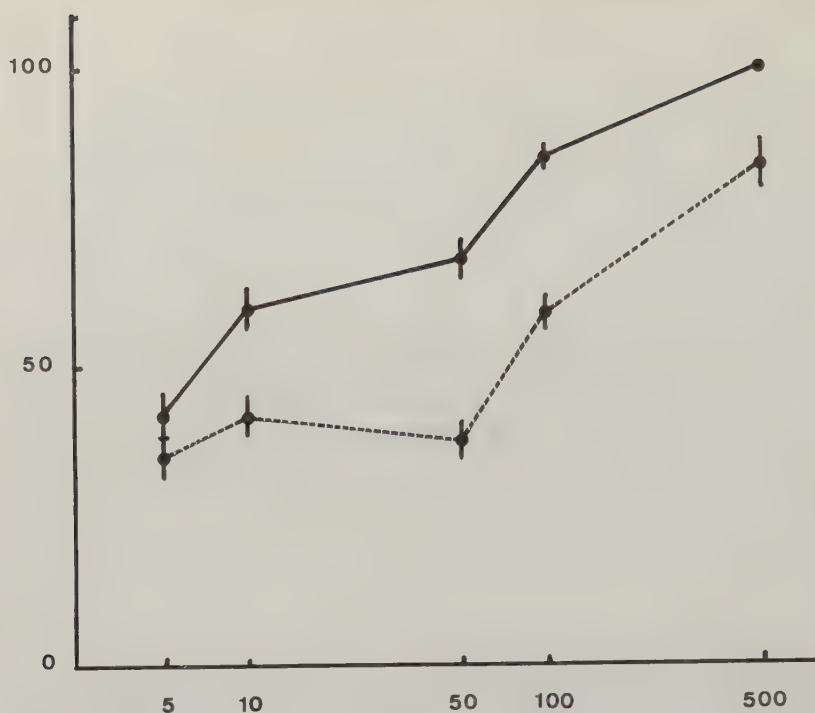


Fig. 14 - Canal déférent de cobaye. Courbe dose/réponse - Acétylcholine. (7 expériences). Mêmes indications que fig. 2.

#### Histamine .

L'histamine, mise au contact de l'iléon isolé de Cobaye, a des concentrations de  $1.10^{-7}$  à  $4.10^{-6}$  M. n'a présenté aucun signe d'auto-inhibition. Nous avons d'ailleurs fait remarquer plus haut (Première Partie) que, dans leurs expériences sur l'histamine, VAN ROSSUM et VAN DEN BRINK avaient pu, sans difficulté, recourir à la méthode des réponses cumulées et mettre à profit les avantages qu'elle présente vu la rapidité de son exécution. (Fig. 15).

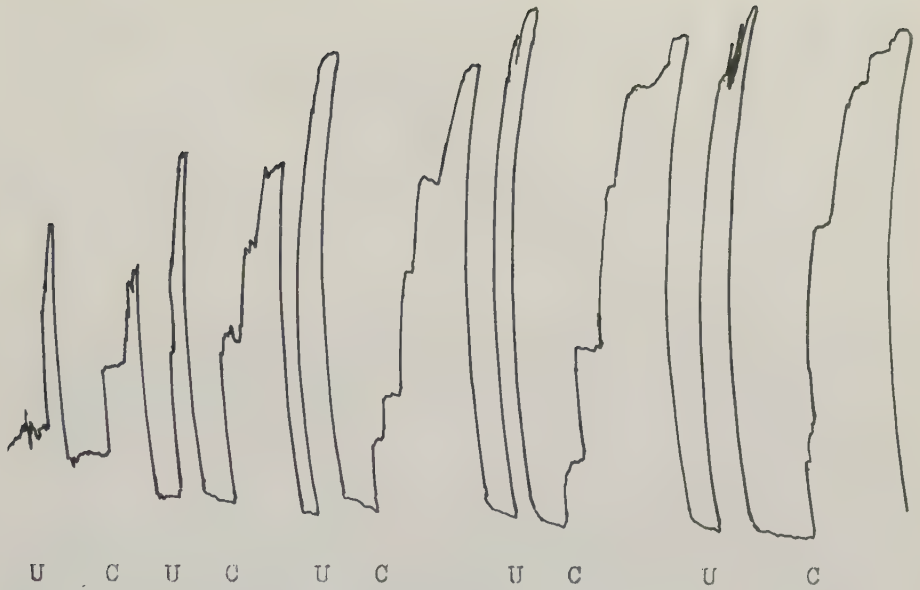


Fig. 15 - Iléon de cobaye. Histamine à  $0,5 - 1,0 - 5,0 \times 10^{-7}$ ,  
 $1,0$  et  $4,0 \times 10^{-6}$  M.  
 U : Additions uniques.  
 C : Additions cumulatives.

#### Sérotonine :

La sérotonine n'a pas présenté non plus la moindre auto-inhibition à la suite des essais que nous avons effectués sur le fundus gastrique de Rat, en utilisant des concentrations comprises entre  $1 \times 10^{-7}$  et  $5.10^6$ .

#### Bradykinine :

Ce polypeptide, étudié sur l'iléon de Cobaye à la concentration de  $1 \times 10^{-7}$ , a permis d'observer une auto-inhibition, mais limitée à la valeur relativement faible de  $8,9 \pm 1,2$  %, chiffre très inférieur, par conséquent, à ceux qui ont été observés pour l'acétylcholine, la noradrénaline et l'adrénaline.

La figure 16 représente la courbe dose/réponse correspondant à la bradykinine.

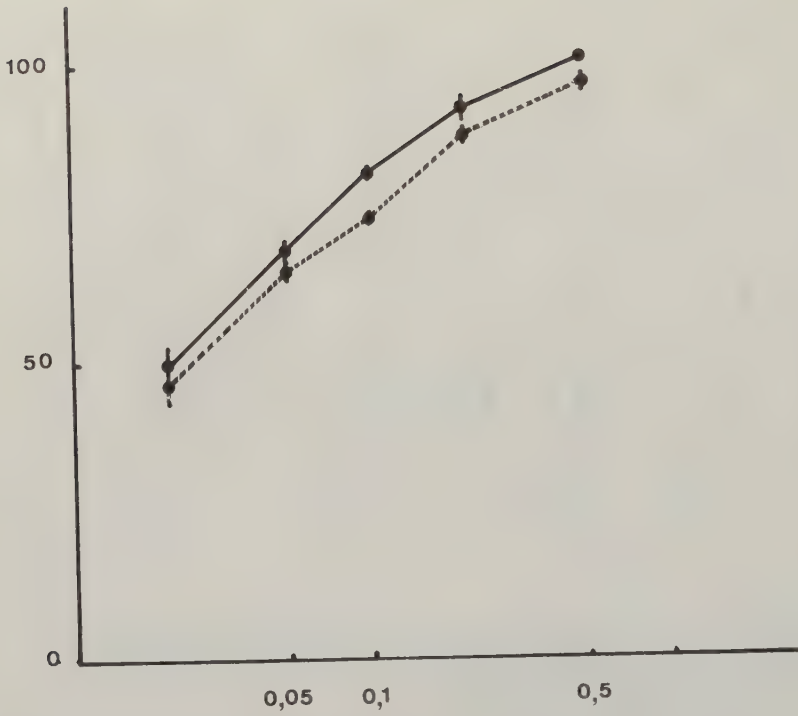


Fig. 16 - Iléon de cobaye. Courbe dose/réponse - Bradykinine (5 expériences). Mêmes indications que fig. 2.

## DISCUSSION

L'emploi des organes isolés en pharmacologie s'est développé considérablement depuis les travaux de MAGNUS et s'est montré fécond pour la mise en évidence des actions périphériques sur les éléments nerveux ou musculaires se traduisant par des modifications de la contractilité de ces organes.

L'analyse de la réponse d'un organe à fibre lisse permet d'observer notamment des modifications de l'amplitude et de la fréquence des contractions spontanées, des modifications de hauteur du tonus de base, ainsi que l'apparition éventuelle d'une contracture plus ou moins stable.

Pour un agent pharmacologique donné, l'intensité de cette contracture est, entre certaines limites, fonction de la dose introduite au contact de l'organe et ce que l'expérimentateur cherche à réaliser dans cette technique des organes isolés, c'est à la fois un maximum de sensibilité, de précision et de fidélité du réactif utilisé.

La pratique du dosage biologique d'une substance active sur l'organe isolé comporte, après vérification de l'apparition d'une réponse pour une dose atteignant un certain seuil, l'établissement d'une "gamme" fournissant la hauteur progressive des réponses correspondant à des doses croissantes de l'agoniste considéré, ce qui conduit à l'établissement d'une courbe dose-réponse caractéristique à la fois de la nature du composé étudié et de celle de l'organe utilisé.

L'introduction réitérée d'une même dose au contact de l'organe, avec renouvellement intercalaire du liquide du bain, fournit en général une réponse de hauteur constante, si l'expérience est bien conduite et dans la mesure où l'agoniste ne provoque pas ce phénomène de tolérance aiguë appelé tachyphylaxie.

En revanche, on constate que, dans certains cas, une même dose d'agoniste introduite, soit en une fois, soit de façon cumulative au contact de l'organe, fournit une réponse de hauteur moins élevée dans le second cas que dans le premier, comme si le comportement de l'organe à l'égard d'une dose d'agoniste dépendait de l'état antérieur de cet organe, c'est-à-dire du travail précédemment accompli.

On est alors amené à concevoir qu'un état d'inhibition résiduelle se maintient après chaque contraction, cette inhibition étant d'autant plus importante que la dose de l'agoniste a été plus élevée.

RUIZ GIJON et coll. (1958) ont exprimé cette notion, que l'effet théorique  $E_t$  de chaque dose est égal à l'effet réel  $E_r$ , augmenté de l'effet équivalent à l'inhibition exercée par le muscle, en réponse aux contractions qui se sont antérieurement produites :

$$E_t = E_r + \text{inhibition}$$

Mais la question qui vient à l'esprit est de savoir si cette "inhibition" doit être conçue au sens physiologique du terme comme un processus tirant son origine des éléments nerveux autonomes de l'organe et consistant en une répression de la génération d'influx par ces cellules ou si la diminution de la réponse n'est pas plutôt la conséquence d'une modification de l'agoniste dans le sens d'une inactivation.

La non apparition de ce phénomène d'inhibition dans le cas des réponses fournies par les organes isolés dans le cas d'un agoniste aussi stable chimiquement que le chlorure de potassium, aussi bien que dans le cas de l'histamine, de la sérotonine, de la bradykinine, contraste avec la netteté de sa survenue dans le cas de la noradrénaline, de l'adrénaline qui subissent au contact de l'organe une inactivation résultant, d'une part, des phénomènes de fixation ou de stockage intraneuronaux, d'autre part, des phénomènes de dégradation métabolique.

En effet, l'action, soit in vivo, soit in vitro, d'inhibiteurs de ces différents processus d'inactivation s'est montrée capable, dans la plupart des cas, de réduire de façon marquée, l'auto-inhibition observée avec la noradrénaline sur la vésicule séminale du Rat. Ainsi, en a-t-il été avec la réserpine, la cocaïne, la désipramine, inhibiteurs du stockage ou de la fixation intraneuronale, avec le pyrogallol inhibiteur de la COMT, avec l'iproniazide et d'autres IMAO.

Nous sommes donc amenés à cette conception que si les phénomènes d'"auto-inhibition" observés dans les réponses de divers organes isolés à certains agonistes comme la noradrénaline et l'adrénaline sont, pour une part, imputables à une sorte d'accommodation des organes, ils sont, pour une autre part, la conséquence des processus d'inactivation qui s'exercent sur les agonistes eux-mêmes par suite de leur capture et de leur transformation métabolique.

## CONCLUSIONS

1) La technique d'utilisation des organes isolés à fibres lisses couramment mise à profit pour les dosages biologiques d'agents contracturants ou relaxants est pratiquée le plus souvent selon les indications originelles de MAGNUS, qui consistent à introduire, au contact de l'organe en survie, des quantités connues de la solution à doser, chaque addition étant, une fois enregistrée la réponse de l'organe, suivie d'un renouvellement du liquide du bain.

Or cette technique a été parfois modifiée, en vue d'abréger les délais d'exécution exigés par des dosages répétés, comme cela a lieu dans l'établissement d'une courbe dose-réponse, cette modification consistant à recourir à l'enregistrement des réponses successives et cumulées de doses introduites au contact de l'organe, sans lavages intercalaires de celui-ci.

On peut toutefois se demander si cette façon d'opérer est légitime et si, dans tous les cas, l'intensité de la réponse, consécutive à l'introduction, au contact de l'organe d'une quantité déterminée d'un composé actif est la même selon que cette introduction a été faite en une seule fois ou de manière cumulée.

2) En fait, si pour d'assez nombreux composés actifs sur la fibre lisse comme le chlorure de potassium, l'histamine, la sérotonine, les réponses obtenues par l'une ou l'autre des deux techniques atteignent la même amplitude, il n'en va plus de même pour la noradrénaline, l'adrénaline et d'autres amines sympathomimétiques, ainsi que pour l'acétylcholine, au moins dans le cas de certains organes isolés. C'est à l'étude de ces cas particuliers que notre travail a été consacré.

3) Nous avons désigné par degré d'auto-inhibition la différence relative entre l'intensité des réponses fournies respectivement par l'addition globale et l'addition cumulée d'une même dose d'agoniste, dans des conditions expérimentales précises sur un organe donné. Ce degré d'auto-inhibition a été mesuré dans le cas des réponses données par la noradrénaline sur un certain nombre d'organes isolés et l'expérience a été répétée avec différentes doses d'agonistes pour

obtenir une courbe dose/réponse. Les valeurs de ce degré d'inhibition ont été trouvées les plus élevées dans le cas du canal déférent de Rat et de la vésicule séminale de Cobaye, et nettement moins accusées dans le cas de l'aorte et du duodénum de Rat et nos expériences ont été poursuivies sur la vésicule séminale isolée de Rat.

4) La question s'est alors posée de savoir si le phénomène d'auto-inhibition observé avec la noradrénaline était en relation avec les processus d'inactivation de cette amine in vitro ; nous avons donc réalisé des expériences en présence d'inhibiteurs de la fixation ou de l'accumulation intraneuronale (uptake, storage) ou d'inhibiteurs d'enzymes intervenant dans la dégradation métabolique de la noradrénaline.

Dans ces conditions, la réserpine, la cocaïne, la désipramine, l'iproniazide et d'autres IMAO, et le pyrogallol, ont amené une diminution plus ou moins importante du degré d'auto-inhibition.

En revanche, <sup>l'innervation</sup> ~~l'innervation~~ chronique des vésicules séminales chez le Rat, n'a pas amené de modification du phénomène étudié.

5) L'étude d'autres amines sympathomimétiques nous a montré que l'adrénaline et la phényléphrine se comportaient sensiblement comme la noradrénaline, alors que la dopamine et le métaraminol n'ont présenté que un signe d'auto-inhibition.

6) C'est seulement dans ses réponses sur le canal déférent de Cobaye que l'acétylcholine a révélé le phénomène en question, aucune inhibition n'est apparue sur la trachée de Cobaye, ni le fundus gastrique de Rat.

7) Parmi les autres agonistes étudiés, seule la bradykinine a permis d'observer sur l'iléon de Cobaye un faible degré d'auto-inhibition, tandis que ni l'histamine, ni la sérotonine n'ont présenté ce phénomène.

8) Les résultats observés dans le domaine des sympathomimétiques montrent que l'utilisation des organes isolés par la méthode cumulative peut aboutir, dans certains cas, à des différences assez considérables avec les résultats fournis par la méthode classique.

9) Enfin, nous pouvons déduire de nos recherches que les phénomènes d'auto-inhibition observés dans le cas de la noradrénaline résultent au moins en partie, dans l'action des différents processus d'inactivation de cet agoniste (fixation et accumulation intraneuronale, dégradation métabolique) qui sont capables de se manifester in vitro et à des degrés différents, suivant l'organe isolé utilisé dans les expériences.

## BIBLIOGRAPHIE

- 1 - AXELROD (J.), HERTTING (G.) et POTTER (L.T.) -  
Effect of drugs on the uptake and release of  $H^3$ -norepinephrine in the rat heart. - Nature, Lond. 1962, 194, 297.
- 2 - AXELROD (J.), WHITBY (L.G.) et HERTTING (G.) -  
Effect of psychotropic drugs on the uptake of  $H^3$ -noreneprhine by tissues. - Science, 1961, 133, 383.
- 3 - BARNETT (A.), GREENHOUSE (D.D.) et TABER (R.I.) -  
A new type of drug enhancement : increased maximum response to cumulative noradrenaline in the isolated rat vas deferens. Brit. J. Pharmacol., 1968, 33, 177.
- 4 - BEVAN (J.A.) et VERITY (M.A.) -  
Sympathetic nerve-free vascular muscle. - J. Pharmacol. Exp. Therap., 1967, 157, 117.
- 5 - BEJRABLAYA (D.), BURN (J.H.) et WALKER (J.M.) -  
The action of sympathomimetic amines on heart rates in relation to the effect of reserpine. - Brit. J. Pharmacol., 1958, 13, 461.
- 6 - BININI (P.), BONACCORSI (A.), GARATTINI (S.), MORSELLI (P.L.) et MUSCETTOLA (G.) -  
Uptake of desipramine by the rat vas deferens. - Brit. J. Pharmacol., 1972, 44, 262.
- 7 - BOULLIN (D.J.) et O'BRIEN (R.A.) -  
The accumulation of antihypertensive drugs by human blood platelets and its possible significance. J. Physiol. 1968, 198, 17 p.

- 8 - BRIMJOIN (S.), PLUCHINO (S.) et TRENDELENBURG (U.) -  
On the mechanism of supersensitivity to noradrenaline in the denervated cat spleen. - J. Pharmacol. Exp. Therap. 1970, 175, 503.
- 9 - BURN (J.H.) et RAND (M.J.) -  
The action of sympathomimetic amines in animals treated with reserpine. - J. Physiol., 1958, 144 314.
- 10 - BURN (J.H.) et RAND (M.J.) -  
The cause of supersensitivity of smooth muscle to noradrenaline after sympathetic degeneration. - J. Physiol. 1959, 147, 135.
- 11 - BURN (J.H.) et RAND (M.J.) -  
The cause of supersensitivity due to sympathetic denervation. 21° Cong. Int. Sciences Physiol. - Buenos Aires, 1959, 47.
- 12 - BUTTERFIELD (J.L.) et RICHARDSON (J.A.) -  
Acute effects of guanethidine on myocardial contractility and catecholamine levels. - Proc. Soc., Exp., Biol. (N.Y.), 1961, 106, 259.
- 13 - CANTONI (G.L.) et EASTMAN (G.) -  
On the response of the intestine to smooth muscle stimulants. J. Pharmacol. Exp. Therap., 1946, 87, 392.
- 14 - CANNON (W.B.) et LISSAK (K.) -  
Evidence for adrenaline in adrenergic neurons. - Amer. J. Physiol., 1939, 125, 765.
- 15 - CARLSSON (A.) -  
Pharmacological depletion of catecholamine stores. - Pharmacol. Rev. 1966, 18, 541.
- 16 - CASS (R.), KUNTZMAN (R.) et BRODIE (B.B.) -  
Norepinephrine depletion as a possible mechanism of action of guanethidine (SU 5864), a new hypotensive agent. - Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1950, 103, 871.
- 17 - DANIEL (E.E.) -  
Interrelation of drugs, ions and metabolism in uterine muscular activity. - Fed. Proc., 1952, 11, 335.

18 - DENGLE (H.J.), SPIEGEL (H.E.) et TITUS (E.O.) -

Effects of drugs on uptake of isotopic norepinephrine by cat tissues. - *Nature, Lond.*, 1961, 191, 816.

19 - EULER (U.S. Von) et LISHAJKO (F.) -

Effect of adenine nucleotides on catecholamine release and uptake in isolated adrenergic nerve granules. - *Acta Physiol. Scand.* 1963, 59, 454.

20 - EULER (U.S. Von) et PURKHOLD (A.) -

Effect of sympathetic denervation on the noradrenaline and adrenaline content of the spleen, kidney, and salivary glands in the sheep. - *Acta Physiol. Scand.* 1951, 24, 212.

21 - FLECKENSTEIN (A.) et BURN (J.H.) -

The effect of denervation on the action of sympathomimetic amines on the nictitating membrane. - *Brit. J. Pharmacol.*, 1953, 8, 69.

22 - FLECKENSTEIN (A.) et STOCKLE (D.) -

Zum mechanismus der Wirkungsverstärkung und Wirkungsschwächung sympathomimetischer Amine durch Cocain und andere Pharmaka. II. Die Hemmung der Neuro-Sympathomimetica durch Cocain. - *Arch. Exp. Path. Pharmacol.* 1955, 224, 401.

23 - FLEMING (W.W.) et TRENDELENBURG (U.) -

The development of supersensitivity to norepinephrine after pretreatment with reserpine. - *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 1961, 133, 41.

24 - FLEMING (W.W.) et SCHMIDT (J.L.) -

The sensitivity of the isolated rabbit ileum to sympathomimetic amines following reserpine pretreatment. - *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 1962, 135, 34.

25 - FURCHGOTT (R.F.), KIRPEKAR (S.M.), RIEKAK (M.) et SCHWAB (A.) -

Actions and interactions of norepinephrine, tyramine and cocaine on aortic strips of rabbit and left atria of guinea-pig and cat. - *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1963, 142, 39.

26 - FLEMING (W.W.) -

Changes in the sensitivity of the cat's nictitating membrane to norepinephrine, acetylcholine and potassium ion. - *Biochem. Pharmacol.*, 1963, 12 supp. 20.

- 27 - FOSTER (R.N.) et O'DONNEL (S.R.) -

Some evidence of the active uptake of noradrenaline in the guinea-pig isolated trachea. *Brit. J. Pharmacol.*, 1972, 45, 71.

- 28 - FURCHGOTT (R.F.) et BHADRAKOM (S.) -

Reactions of strips of rabbits aorta to epinephrine, isopropyl-arterenol, sodium nitrite and other drugs. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 1953, 108, 129.

- 29 - GLOWINSKI (J.), IVERSEN (L.L.) et AXELROD (J.) -

Storage and synthesis of norepinephrine in the reserpine-treated rat brain. - *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 1966, 151, 385.

- 30 - GOODALL (Mc C.) -

Studies of adrenaline and noradrenaline in mammalian heart and suprarenals. - *Acta Physiol. Scand.* 1951, 24, suppl. 85.

- 31 - GRISEMER (E.C.), BARSKY (J.), DRAGSTEDT (C.A.), WELLS (J.A.) et ZELLER (E.A.) -

Potentiating effect of iproniazid on the pharmacological action of sympathomimetic amines. - *Proc. Soc. Exp. Biol.*, 1953, 84, 699.

- 32 - GUIMARAES (S.) -

Reversal by pronethalol of dibenamine blockade : a study on the seminal vesicle of the guinea-pig. *Brit. J. Pharmacol.*, 1969, 36, 594.

- 33 - HERTING (G.), KOPIN (I.J.) et GORDON (E.) -

The uptake, release and metabolism of norepinephrine  $7\text{-H}^3$  in the isolated perfused rat heart. - *Fed. Proc.*, 1962, 21, 331.

- 34 - HERTTING (G.), AXELROD (J.) et WHITBY (L.G.) -

Effect of drugs on the uptake and metabolism of  $\text{H}^3$ -norepinephrine. - *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 1961, 134, 146.

- 35 - HERTTING (G.), AXELROD (J.), KOPIN (I.J.) et WHITBY (L.G.) -

Lack of uptake of catecholamines after chronic denervation of sympathetic nerves. - *Nature, Lond.*, 1961, 189, 66.

- 36 - HOLTZ (P.), OSSWALD (W.) et STOCK (K.) -

Über die Beeinflussung der Wirkungen sympathicomimetischer Amine durch Cocain und Reserpine. - *Arc. Exp. Path. Pharmacol.* 1960, 239, 14.

## 37 - HUDGINS (P.M.) et WEISS (J.B.) -

Differential effects of Calcium removal upon vascular smooth muscle contraction induced by norepinephrine, histamine and potassium. - J. Pharmacol. Exp. Therap., 1968, 159, 91.

## 38 - HUDGINS (P.M.) et FLEMING (W.W.) -

A relatively non specific supersensitivity in aortic strips resulting from pretreatment with reserpine. - J. Pharmacol. Exp. Therap., 1966, 153, 70.

## 39 - ISAAC (L.) et GOTH (A.) -

Interaction of antihistaminics with norepinephrine uptake : A cocaine-like effect. - Life Science, 1965, 4, 1899.

## 40 - IVERSEN (L.L.) -

The inhibition of noradrenaline uptake by drugs. - Adv. Drug. Res., 1965(b), 2, 5.

## 41 - IVERSEN (L.L.) -

The uptake of catecholamines at high perfusion concentration in the rat isolated heart : A novel catecholamine uptake process. - Brit. J. Pharmacol. Chemother., 1965(a), 14, 536.

## 42 - IVERSEN (L.) -

The uptake and storage of noradrenaline in sympathetic nerves. - Cambridge University Press., 1967.

## 43 - JOSSELIN (R.E.) et JOSSELIN (R.S.) -

Tachyphylaxis of guinea-pig ileum to histamine and furtrethonium. - J. Pharmacol. Exp. Therap., 1973, 184, 494.

## 44 - KALSNER (S.) et NICKERSON (M.) -

Mechanism of cocaine potentiation of responses to amines. Brit. J. Pharmacol., 1969, 35, 428.

## 45 - KASUYA (Y.) et GOTO (K.) -

The mechanism of supersensitivity to norepinephrine induced by cocaine in rat isolated vas deferens. - Europe. J. - Pharmacol., 1968, 4, 355.

## 46 - KIRPEKAR (S.M.), CERVONI (P.) et FURCHGOTT (R.F.) -

Catecholamine content of the cat nictitating membrane following procedures sensitizing it to norepinephrine. - J. Pharmacol. Exp. Therap., 1962, 135, 180.

## 47 - KIRSHNER (N.) -

Uptake of catecholamines by a particulate fraction of the adrenal medulla. - J. Biol. Chem., 1962, 237, 2311.

## 48 - KOPIN (I.J.) et GORDON (E.) -

Metabolic fate of circulating, bound, and reserpine- and tyramine released  $H^3$ -norepinephrine. - Fed. Proc., 1962, 21, 332.

## 49 - KUSCHINSKY (K.), LAHRTZ (H.), LULLMANN (H.) et VAN ZWIETEN (P.A.) -

Accumulation and release of  $^3H$ -digoxin by guinea-pig heart muscle. - Brit. J. Pharmacol., Chemother. 1967, 30, 317.

## 50 - LESZKOVSKY (J.P.) et TARDOS (L.) -

Potentialiation by cocaine and 33-bi-(p- aminophenyl) - propylamine (T.K 174) on the effect of isoprenaline and norepinephrine on isolated strip of cat spleen. - J. Pharm. Pharmacol., 1968, 20, 377.

## 51 - LEWIS (J.E.) et MILLER (J.W.) -

The use of tritiated phenoxybenzamine for investigation receptors. - J. Pharmacol. Exp. Therap. 1966, 154, 46.

## 52 - MACMILLAN (W.H.) -

A hypothesis concerning the effect of cocaine on the action of sympathomimetic amines. - Brit. J. Pharmacol. Chemother, 1959, 14, 385.

## 53 - MARKS (B.H.), DUTTA (S.) et HOFFMAN (R.F.) -

Cocaine- $H^3$  binding by isolated guinea-pig vas deferens. - Arch. Int. Pharmacodyn. Therap., 1967, 168, 28.

## 54 - MAXWELL (R.A.), POVALSKI (H.) et PLUMMER (A.J.) -

A differential effect of reserpine on pressor amine activity and its relationship to other agents producing this effect. J. Pharmacol. Exp. Therap., 1959, 125, 178.

## 55 - MAXWELL (R.A.), WASTILA (W.B.) et ECKHARDT (S.B.) -

Some factors determining the responses of rabbit aortic strips to dl-norepinephrine-7- $H^3$ -hydrochloride and the influence of cocaine, guanethidine and methylphenidate on these factors. - J. Pharmacol. Exp. Therap., 1966, 151, 253.

- 56 - MORAN (J.F.), MAY (M.), KINIELBERG (H.) et TRIGGLE (D.J.) -  
Studies on the noradrenaline alpha-receptor. I. Techniques of receptor isolation. The distribution and specificity of action of N-(2-bromoethyl)-N-ethyl-1-naphthylamine, a competitive antagonist of noradrenaline. - *Mol. Pharmacol.*, 1967, 3, 15.
- 57 - MURNAGHAN (M.F.) et MAZURKIEWICZ (I.M.) -  
Some pharmacological properties of 4-Methyltropolone. - *Rev. Canad. Biol.*, 1963, 22, 99.
- 58 - MUSKUS (A.J.) -  
Effect of pretreatment with reserpine and reserpine analogs on the response of isolated guinea-pig atria to tyramine. - *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 1962, 138, 296.
- 59 - MUSCHOLL (E.) -  
Metaraminol. - In "Hdb.d.exp.Pharmakol. Heffter-Heubner. (new series). 1972, 33, 618.
- 60 - PARDO (E.G.), MAGANA (J.L.) et VARGAS (R.) -  
Tachyphylaxis as a mechanism for the regulation of responses to autonomic mediators. *Fed. proc.*, 1960, 19, 52.
- 61 - PATON (W.D.M.) -  
A theory of drug action based on the rate of drug-receptor combination. - *Proc. Roy. Soc.*, 1961, 154, 21.
- 62 - PARDO (E.G.), HONG (E.) et LE LORIER (J.) -  
Autoinhibition in rabbit aortic strip after epinephrine. - *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 1967, 157, 303.
- 63 - PATON (W.D.M.) et RAND (H.P.) -  
The uptake of atropine and related drugs by intestinal smooth muscle of the guinea-pig in relation to acetylcholine receptors. - *Proc. R. Soc. Biol.*, 1965, 163, 1.
- 64 - PENNEFATHER (J.W.) -  
A comparison of response of the isolated vas deferens of the rat to field stimulation and to noradrenaline cumulatively and non cumulatively. - *Europ. J. Pharmacol.*, 1973, 23, 245.

- 65 - PLETSCHER (A.), SHORE (P.A.) et BRODIE (B.B.) -

Serotonin release as a possible mechanism of reserpine action. Science, 1955, 122, 374.

- 66 - POTTER (L.T.) -

Uptake of propanolol by isolated guinea-pig atria. - J. Pharmacol. Exp. Therap., 1967, 155, 91.

- 67 - ROSENTHALE (M.E.) et DIPALMA (J.R.) -

Acute tolerance to norepinephrine in dogs. - J. Pharmacol. Exp. Therap., 1962, 136, 336.

- 68 - ROSZKOWSKI (A.P.) et KOELLE (G.B.) -

Enhancement of inhibitory and excitatory effects of catecholamines. - J. Pharmacol. Exp. Therap., 1960, 128, 227.

- 69 - SCHMIDT (J.L.) et FLEMING (W.W.) -

The structure of sympathomimetics as related to reserpine induced sensitivity changes in the rabbit ileum. - J. Pharmacol. Exp. Therap., 1963, 139, 230.

- 70 - SJOSTRAND (N.D.) -

The adrenergic innervation of the vas deferens and accessory male genital gland. - Acta Physiol. Scand., 1965, 65 (suppl.).

- 71 - SJOSTRAND (N.D.) et SWEDING (G.) -

Effect of reserpine on the noradrenaline content of vas deferens and the seminal vesicle compared with the submaxillary gland and the heart of the rat. - Acta Physiol. Scand., 1968, 72, 370.

- 72 - SPEDDING (M.) et WEETMAN (D.F.) -

The presence of  $\beta$ -adrenoceptors in the guinea-pig seminal vesicle. - Brit. J. Pharmacol., 1972, 45, 21.

- 73 - STAFFORD (A.) -

Potentialiation of some catecholamines by phenoxybenzamine, guanethidine and cocaine. - Brit. J. Pharmacol., 1963, 21, 361.

- 74 - STROMBLAD (B.C.R.) -

Adrenaline-noradrenaline content of the submaxillary gland of the cat. - Experientia, 1960, 16, 417.

- 75 - TITUS (E.O.) et SPIEGEL (H.E.) -

Effect of desmethylinipramine (DMI) on uptake of norepinephrine 7- $H^3$  (NE) in heart. - Fed. Proc., 1962, 21, 179.

- 76 - TRENDELENBURG (U.), MUSKUS (A.), FLEMING (W.W.) et GOMEZ ALONSO de la SIERRA (B.) -

Effect of cocaine, denervation and decentralization on the response of the nictitating membrane to various sympathomimetic amines. - J. Pharmacol. Exp. Therap., 1962b, 138, 181.

- 77 - TRENDELENBURG (U.), GOMEZ ALONSO de la SIERRA (B.) et MUSKUS (A.) -

Modification by reserpine of the response of the atria pacemaker to sympathomimetic amines. - J. Pharmacol. Exp. Therap., 1963, 141, 301.

- 78 - TRENDELENBURG (U.), MUSKUS (A.), FLEMING (W.W.) et GOMZE ALONSO de la SIERRA (B.) -

Modification by reserpine of the action of sympathomimetic amines in spinal cats ; a classification sympathetic amines. J. Pharmacol. Exp. Therap., 1962, 138, 170.

- 79 - TRENDELENBURG (U.) -

Supersensitivity and subsensitivity to sympathomimetic amines. - Pharmacol. Reviews, 1963, 15, 225.

- 80 - TSAI (T.H.), DENHAM (S.) et McGRATH (W.R.) -

Sensitivity of the isolated nictitating membrane of the cat to noradrenaline and acetylcholine after various procedures and agents. - J. Pharmacol. Exp. Therap., 1968, 164, 146.

- 81 - VAN ROSSUM (J.M.) et VAN DEN BRINK (F.G.) -

Cumulative dose-response curves. I. Introduction to the technique. - Arch. Int. Pharmacodyn., 1963, 143, 240.

- 82 - VAN ROSSUM (J.M.) -

Cumulative dose-response curves. II. Technique for the making of dose-response curves in isolated organ and the evaluation of drug parameters. - Arch. Int. Pharmacol., 1963, 143, 299.

## 83 - VAN ZWIETEN (P.A.), WIDHALM (S.) et HERTTING (G.) -

Influence of cocaine and of pretreatment with reserpine on the pressor effect and the tissue uptake of injected dl-catecholamines-2- $H^3$ . - J. Pharmacol. Exp. Therap., 1965, 149, 50.

## 84 - VARMA (D.R.) et McCULLOUGH (H.N.) -

Dissociation of the supersensitivity to norepinephrine caused by cocaine from inhibition of  $H^3$ -norepinephrine uptake in cold-stored smooth muscle. - J. Pharmacol. Exp. Therap., 1969, 166, 26.

## 85 - WILKIE (D.) -

The relation between concentration and action of adrenaline. J. Pharmacol. Exp. Therap., 1928, 34, 1.







